

Estudio de la depresión y ansiedad en murinos: modelos, pruebas conductuales, criterios bioéticos y evaluación del dolor

Study of depression and anxiety in murine animals: models, behavioral tests, bioethical criteria and pain evaluation

Sandra Angélica Rojas-Osornio ¹, Minerva Crespo-Ramírez ²,
Ricardo Martínez-Lara ³, Dasiel Borroto-Escuela ^{4, 5},
Elia Brosla Naranjo Rodríguez ⁶, Kjell Fuxe ^{4, 5},
Miguel Pérez de la Mora ², Emiliano Tesoro-Cruz ^{7, 8}.

1. Licenciatura en Medicina, Departamento de Formación Básica Disciplinaria, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional. Ciudad De México, México.
2. División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.
3. Unidad de Investigación Biomédica en Inmunología e Infectología, Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza", Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México.
4. Department of Neuroscience, Karolinska Institutet. Estocolmo, Suecia.
5. Receptomics and Brain Disorders Lab, Department of Human Physiology, Faculty of Medicine, University of Malaga. Málaga, España.
6. Departamento de Farmacia. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.
7. Departamento de Etología, Fauna Silvestre y Animales de Laboratorio, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.
8. Unidad de Investigación Biomédica en Inmunología e Infectología, Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza", Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México.



Recibido: 26 de julio de 2024.

Aceptado: 7 de octubre de 2024.

ART-RE-81-e080107

DOI: 10.5281/zenodo.15769202

Autor(a) responsable de la correspondencia

Emiliano Tesoro-Cruz

emiliano_tesoro@hotmail.com

Paseo de las Jacarandas s/n esquina Calz. Vallejo, Col. La Raza,
C.P. 02990, Alcaldía Gustavo A. Madero. Ciudad de México, México.



Este artículo se distribuye bajo una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional.

© Rojas-Osornio SA, Crespo-Ramírez M, Martínez-Lara R, Borroto-Escuela D, Naranjo EB, Fuxe K, Pérez M, Tesoro-Cruz E. Estudio de la depresión y ansiedad en murinos: modelos, pruebas conductuales, criterios bioéticos y evaluación del dolor. Rev Cadena Cereb. 2024; 8(1): e080107. <https://www.cadenadecerebros.com/articulo/2024-e080107>

RESUMEN

En la actualidad, la depresión y la ansiedad son padecimientos que se han incrementado desde la pandemia de la COVID-19. La ansiedad, por un lado, se caracteriza por una sensación desagradable acompañada de aprehensión excesiva y de una extremada vigilancia del entorno, mientras que la depresión suele ser un trastorno en el que la persona no tiene motivación ni interés para realizar tareas que antes eran satisfactorias. Los modelos animales resultan de utilidad para estudiar este tipo de enfermedades. El objetivo del presente trabajo es difundir información sobre los modelos murinos más comunes para el estudio de la depresión y la ansiedad utilizando pruebas conductuales para su evaluación, así como, fomentar y concientizar sobre los criterios bioéticos y evaluación del dolor para el cuidado de los animales sometidos a este tipo de pruebas.

Palabras clave: Depresión; Ansiedad; Murinos; Pruebas conductuales; manejo del dolor.

ABSTRACT

Currently, depression and anxiety are conditions that have increased since the COVID-19 pandemic. Anxiety is characterized by an unpleasant feeling accompanied by excessive apprehension and extreme vigilance of the environment, while depression is a disorder in which the person lacks motivation and interest in performing previously satisfying tasks. Animal models are useful for studying these types of illnesses. The aim of this paper is to disseminate information on the most common murine models for the study of depression and anxiety using behavioral tests for their assessment, as well as to promote and raise awareness of the bioethical and pain assessment criteria for the care of animals subjected to such tests.

Keywords: Depression; Anxiety; Murine; Behavioral tests; pain management.

INTRODUCCIÓN

La depresión es una enfermedad mental, resultado de interacciones entre factores sociales, psicológicos, biológicos e incluso genéticos; una alteración de las emociones, donde sobresalen el menoscabo, la inhibición y el deterioro funcional. La depresión y la ansiedad son padecimientos que se han incrementado desde la pandemia de la COVID-19 en varios grupos de edad. Según la OMS, la prevalencia de los trastornos de ansiedad ha experimentado un incremento del 25% a nivel mundial, afectando principalmente a mujeres y jóvenes¹. En un estudio en adultos mayores (60-65 años) en Baja California sobre síntomas depresivos, ansiedad y estrés en aquellos que tuvieron COVID-19, los problemas emocionales predominaron en mujeres². En China se reportó un incremento de los síntomas depresivos en población juvenil (22.6%) y síntomas de ansiedad en 18.9% de los estudiantes³. El 13 de enero se conmemora el día mundial de la lucha contra la depresión, un trastorno que, representa 4.3% de la carga mundial de morbilidad y se encuentra entre las principales causas mundiales de discapacidad (CONADIS). De las 10 principales causas de discapacidad a nivel mundial, 5 están relacionadas con trastornos psiquiátricos; 2.7% de la población mundial ha experimentado un trastorno de pánico en algún momento de su vida, mientras que el 6.6% padece de trastorno de ansiedad (OMS). Los trastornos de ansiedad afectan con mayor frecuencia a las mujeres siendo prevalente casi el doble respecto a los hombres¹.

Una persona con depresión tiene entre 40% y 60% más probabilidad de morir prematuramente en comparación con la población general⁴. Una de las complicaciones más importantes de la depresión es el suicidio, siendo esta la segunda causa de muerte entre los jóvenes a nivel mundial. La tasa global en 2019 fue de 9.2/100 000 habitantes, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (Plan de acción integral sobre salud mental 2013-2030)⁵; en México fue de 5.7 en 2017 e incrementó a 6.3/100 000 habitantes en 2022 (INEGI).

Las personas con depresión suelen presentar síntomas como pérdida de energía, cambios en el apetito, indecisión, inquietud, desesperanza, ansiedad (OPS; OMS). La ansiedad es una reacción emocional ante situaciones amenazantes para el individuo⁶, un estado de agitación o inquietud que se caracteriza por sentimientos de intranquilidad e hipervigilancia, aprehensión y activación del sistema nervioso autónomo en ausencia de un estímulo específico⁷.

Para investigar las posibles causas, tratamientos y corroborar el sustento neurobiológico de la enfermedad depresiva y ansiedad, la psiquiatría experimental como otras disciplinas utilizan, como recursos científicos, los modelos animales como una manera de simular algunos aspectos de la enfermedad, donde la manipulación de variables es casi imposible en seres humanos; sin embargo, es difícil hallar modelos animales idóneos debido a la ausencia de síntomas, que por su naturaleza verbal se encuentran únicamente en los humanos y que no siempre los signos son evidentes. Los modelos deben ser sensibles al manifestar cambios en la conducta en el sujeto de estudio. Se han descrito modelos para simular algunos aspectos de la enfermedad depresiva, así como pruebas para evaluar algunos de sus aspectos biológicos, conductuales y farmacológicos⁸⁻¹⁰.

MODELOS MURINOS PARA EL ESTUDIO DE DEPRESIÓN/ANSIEDAD

Los modelos animales resultan de utilidad a la hora de estudiar cierto tipo de síntomas de la depresión, que pueden ser medidos objetivamente. Estos modelos se establecen de acuerdo a varios conceptos básicos: validez aparente (fenotipo similar al humano que padece la enfermedad), validez de constructo (los procesos que resultan en la patología humana se recapitulan con el modelo), validez predictiva (sensibilidad a las reacciones farmacológicas y no farmacológicas), validez homológica (validez de especie y cepa o

estirpe), validez mecanicista (mecanismos cognitivos o biológicos similares) y la validez patogénica (validez etiológica y de biomarcadores), los cuales son efectivos para la enfermedad o condición en humanos¹¹. Existen varios modelos para imitar las características de la depresión, algunos se han desarrollado basados en la exposición al estrés (agudo o crónico), la interacción gen-ambiente, la administración exógena de glucocorticoides y manipulaciones genéticas¹¹.

El modelo a usarse dependerá del proceder de la investigación, es decir, si por ejemplo se requiere estudiar los cambios cerebrales por exposición al estrés se deberá elegir un modelo de estrés. A continuación se mencionan algunas formas de inducir depresión en murinos¹⁰.

Modelo farmacológico. Se obtiene mediante la aplicación, crónica o aguda, de distintas drogas (reserpina, clomipramina) que producen en el animal algunas alteraciones fisiológicas y/o conductuales que imitan la patología en el hombre¹⁰.

Modelo de estrés. El estrés agudo puede ser inducido por diversos procedimientos como por ejemplo someter a los animales a natación en agua fría, electroshock, aislamiento social, privación de comida o agua, jaulas con la viruta mojada, jaulas inclinadas, cambio de ciclos circadianos de luz/oscuridad, etc¹⁰. Una combinación de estos factores por un período de tiempo (entre 3 semanas a 3 meses según el estímulo) es considerado estrés crónico.

Modelo quirúrgico. Se obtiene a través de lesiones cerebrales como la bulbectomía olfatoria, que es el más utilizado, con la desventaja de ser experimentalmente largo y complejo¹⁰.

Modelo genético. Línea genética Rattus (ratas) FSL (Flinder Sensitive Line)^{10, 12} que presenta alteraciones de los sistemas colinérgico, así como, serotoninérgico y responde normalizando sus alteraciones con antidepresivos; Rattus (ratas) FH (Fawn Hooded), que presentan alteraciones en sus sistemas serotoninérgico y noradrenérgico¹³, Rattus norvegicus albinus (ratas Wistar Kyoto-WKY), que exhiben comportamientos de tipo depresivo en numerosos pruebas conductuales y anormalidades a nivel de las hormonas y es la cepa más utilizada para estudiar la depresión¹⁴. También existen los Mus musculus (ratones) knockout deficientes del gen Tph2 (KO Tph2 -/-) los cuales son modificados por ingeniería genética para que el gen esté inactivado mediante la técnica de bloqueo de genes y muestran conductas alteradas secundarias a la falta de serotonina¹⁵.

Los modelos antes mencionados, teniendo en cuenta los límites existentes para su validación, son útiles para conocer más profundamente los fenómenos cerebrales que acompañan a la depresión y/o ansiedad, para delimitar los mecanismos neurobiológicos y moleculares así como para generar nuevas alternativas terapéuticas¹⁶. Cada modelo tiene sus ventajas y desventajas. Como desventaja, posiblemente será el costo para adquirir y/o mantener la especie

el tiempo que sean requeridas, ya que se requiere de espacios certificados y condiciones especiales para su cuidado.

Los modelos actuales se basan en la manipulación del entorno al que están expuestos los roedores o en fundamentos biológicos (eliminación o sobreexpresión de genes, lesiones específicas de áreas del cerebro, etc.) Estas manipulaciones pueden alterar los resultados biológicos y/o conductuales que pueden relacionarse con diferentes manifestaciones de la depresión¹⁷.

TIPOS DE PRUEBAS PARA EVALUAR DEPRESIÓN/ANSIEDAD EN MURINOS

Al considerar el uso de animales para estudiar la depresión, se deben tener en cuenta los métodos de evaluación para observar los cambios de comportamiento.

Los modelos animales de depresión no deberían depender solo de lecturas conductuales, no es modelar trastornos humanos complejos en animales, sino de seleccionar, realizar e interpretar adecuadamente las pruebas para conocer las dimensiones neurobiológicas de la depresión como trastorno cerebral¹⁶.

Se pueden evaluar mediante diversas pruebas varios aspectos de las características cognitivas y emocionales del roedor, que pueden usarse para medir la respuesta al miedo, la memoria, la ansiedad y la desesperanza¹¹.

Desde hace más de 50 años, se han desarrollado un gran número de pruebas en modelos animales útiles para identificar a la ansiedad y desesperanza que asemeja la conducta depresiva del humano^{18, 19}. La investigación usando modelos animales permite estudiar fenómenos que ocurren en humanos con más profundidad, involucrando diferentes niveles de análisis desde el molecular hasta el conductual²⁰. Los diferentes tipos de pruebas para depresión/ansiedad en murinos, ofrecen la ventaja de ensayar diversas técnicas experimentales que en los seres humanos no sería posible practicar, sin embargo dichas pruebas evocan resultados parciales, por lo que deben combinarse varias de ellas para explicar el comportamiento animal.

Existen más de treinta pruebas en roedores y se pueden clasificar en dos tipos¹⁸:

- a) Pruebas *condicionadas* (**Tabla 1**)²¹⁻²⁷, requieren del entrenamiento de los animales, los cuáles son expuestos a estímulos no habituales para determinar efectos sobre la memoria/aprendizaje, el apetito o la función motora y perceptual. Estos modelos permiten un control preciso de los niveles de conducta basal por parte del experimentador, sin embargo, requieren que se incluyan en el diseño experimental varios grupos de sujetos control para descartar los efectos no espe

cíficos del tratamiento y una complicación adicional es que hay muchas versiones del mismo modelo, según el grupo de trabajo que lo usa, y en cada una de ellas hay modificaciones en los parámetros de la prueba por lo que difieren por sus múltiples dimensiones y, a veces son mal interpretadas²⁸.

- b) Pruebas *no condicionadas* (**Tabla 2**)²⁹⁻⁴⁵, las cuáles no requieren de entrenamiento, se basan en respuestas espontáneas de la conducta del roedor ante estímulos estresantes y buscan medir la respuesta conductual o fisiológica ante estos estímulos.

La mayoría de los procedimientos conductuales para el estudio farmacológico de la depresión / ansiedad se basan en pruebas no condicionadas. Entre las de mayor uso se encuentran las denominadas: *campo abierto*, *laberinto elevado en forma de signo “+”*, *caja luz/oscuridad*, *choque/enterramiento*, *enterramiento de canicas*, *plataforma agujereada*, *natación forzada*, *consumo de sacarosa*, *suspensión de la cola*. Estas pruebas no requieren de un alto costo económico para su ejecución, son rápidas y sencillas, no implican privación de alimento/agua, y/o descargas eléctricas a los roedores y están al alcance de cualquier laboratorio de investigación^{9,19}.

Resulta de gran importancia la elección correcta de la estirpe (considerando género y edad), el modelo a estudiar y la batería de pruebas a las que será sometido el murino según las características de la investigación. Por ejemplo, la prueba de suspensión de la cola se utiliza sólo en ratones, pero no en ratas debido a su mayor tamaño y peso; en la mayoría de los casos, la prueba se utiliza para detectar la respuesta antidepresiva¹¹. Se pueden obtener diferentes resultados dependiendo de la estirpe del animal, es por ello que se deben conocer las características del comportamiento de cada una si se pretende utilizar como modelo. En la **Figura 1** se representan las estirpes de murinos más empleadas en el campo de la investigación y su comportamiento habitual.

Otros factores que deben ser tomados en cuenta al realizar las pruebas no condicionadas, además de la estirpe, son: la edad, el sexo, y el ritmo circadiano. De la misma forma que en el humano el comportamiento presenta diferencias según la edad del individuo, es previsible que esta variabilidad debe estar presente en los modelos murinos, lo cual puede resultar en una influencia relevante de la edad de los individuos seleccionados, sobre los resultados y conclusiones de los estudios conductuales con estos modelos animales⁴⁶. La **Tabla 3**⁴⁶⁻⁵⁶, muestra el comportamiento que tienen algunas estirpes de murinos al someterlos a algunas pruebas no condicionadas según edad y sexo; como puede observarse, es importante tener en cuenta la estirpe, edad y género para la realización de dichas pruebas y evitar falsos negativos en la interpretación de las mismas. Actualmente, no está documentada la importancia de la edad como una variable determinante en las pruebas de comportamiento. Sin embargo, elegir equivocadamente un estadio de la edad del animal para realizar una batería de pruebas conductuales, puede llevar a conclusiones erróneas sobre el fenómeno de estudio⁴⁶. El uso de ambos sexos también

es una variable importante a considerar. En 2016, los Institutos Nacionales de Salud de USA ordenaron el uso de ratones machos y hembras en investigaciones financiadas³⁸. Anteriormente se habían estudiado las diferencias individuales en ratas macho en conductas relacionadas con la depresión ya que la realización de este tipo de estudios en hembras se consideraba complicado debido el efecto del ciclo estral en las respuestas neuroconductuales al estrés, de ahí que se enfocaran en el estudio de machos solamente²⁰. Empero al utilizar hembras en determinadas pruebas, diferentes momentos del ciclo y determinada estirpe (por ejemplo ratón C57BL/6 en la prueba de suspensión de la cola) el comportamiento es similar al de machos⁵⁵.

La temperatura ambiente, humedad, iluminación, ruido, e incluso olor también pueden afectar los resultados de la evaluación²⁹ aunque no hay estudios concluyentes que demuestren alteración en las pruebas.

Una vez elegida la cepa, edad y sexo del murino que más convenga al experimento, éste puede someterse a las pruebas conductuales que el investigador requiera para su estudio. En la **Tabla 2** se menciona el uso de las pruebas no condicionadas así como su interpretación para identificar depresión y/o ansiedad en el roedor, y en la **Tabla 3** algunas diferencias encontradas por diversos autores en relación a la estirpe, edad y sexo.

ASPECTOS BIOÉTICOS ASOCIADOS AL USO DE PRUEBAS CONDUCTUALES

Para que los modelos animales recreen las condiciones que en los humanos indican trastornos ansiogénicos o depresivos estos deben contemplar la etiología, fisiología, sintomatología y su tratamiento, salvaguardando el buen trato de acuerdo a la normativa que dictamina el manejo y uso de animales de laboratorio en cuanto a restricciones ambientales, de movimiento, demandas excesivas de esfuerzo, privación de agua y alimento, estímulos aversivos, administración de fármacos, preparaciones crónicas, aislamiento, entre otras¹⁹. Por ello, es necesario conocer los aspectos que tengan que ver con la capacidad de sentir del animal, tales como el bienestar y las buenas prácticas englobados en la bioética, a fin de evitar el cuestionamiento de la moralidad en la investigación⁵⁷. Los límites sobre lo que se puede hacer o no con los animales se han descrito, pero existen discrepancias sobre su extensión y fundamentación^{58, 59}.

Al carecer los animales de capacidad verbal, la responsabilidad moral recae en el investigador, el cual, para proteger las necesidades esenciales de los animales debe evitar situaciones que generen estrés y dolor. El investigador debe actuar bajo el principio de las 3 R's, establecido en 1959 por Russell y Burch quienes propusieron: reducir el uso de animales en la investigación, refinar las técnicas de investigación y reemplazar a los animales con técnicas alter-

Tabla 1. Pruebas de depresión/ansiedad de tipo *condicionadas* para roedores.

Nombre de la Prueba	Descripción de la prueba (Existen muchas versiones del mismo modelo, por lo que difieren según el grupo que lo usa)
Respuesta emocional condicionada ²¹	Fase de adquisición: varios ensayos (por ejemplo 5) y un procedimiento común de demora breve (20 segundos). Se aparea en ensayos consecutivos, un estímulo condicionado (por ejemplo, luz 110whz) y un estímulo incondicionado (por ejemplo, ruido estridente), respuesta incondicionada (miedo). Después de cada ensayo se retira al sujeto experimental y se deja en la caja de consolidación durante 5 minutos. Se realiza el registro de latencia del tiempo transcurrido entre la presentación del estímulo y la iniciación de la respuesta.
Supresión condicionada (condicionamiento operante) ²¹	Se entrena al sujeto experimental para que aprenda a discriminar entre estímulos, de tal manera que emita una respuesta ante la presencia de determinados estímulos claves que se denominan estímulos discriminativos y la no emisión de la respuesta ante la presentación de otros, lo que hace que las conductas aparezcan únicamente ante determinadas situaciones. En el proceso de discriminación de estímulos, se plantea que el sujeto experimental ya está respondiendo ante la exposición de los estímulos condicionados, posteriormente, se realiza la discriminación a través de la extinción de uno de los estímulos.
Evitación pasiva/activa ²²	Se coloca al sujeto experimental dentro de la caja de Skinner, se cierra la puerta de la caja y se realizan ensayos en los cuales se enciende la luz discriminante y se acciona un tono. Se registra la conducta del sujeto ante la exposición de los estímulos. Posteriormente se hacen ensayos en los cuales se acciona la palanca sin activar el tono y otros en los cuales se activa la luz, se acciona la palanca y no se enciende el tono. Si la rata se acerca a la palanca, no se debe activar el tono, de lo contrario activarlo. El procedimiento se repite hasta que la rata accione la palanca antes de la presentación del tono.
Prueba de cuatro planos (Test de Aron) ²³	Prueba para detectar de manera rápida en el ratón las propiedades ansiolíticas de los fármacos. El aparato consiste en una jaula cuyo suelo está recubierto por cuatro placas metálicas rectangulares idénticas (8 × 11 cm), separadas por una distancia de 4 mm. Las placas están conectadas a un generador de choques que puede generar un estímulo aversivo en la planta de las patas del animal. Después del periodo de habituación, el animal es sometido a una descarga eléctrica al cruzar (transición) de una placa a otra, es decir, dos patas en una placa y dos patas en otra, que suprime esta conducta de exploración de los alrededores, natural en los roedores. El número de cruces castigados se calcula generalmente por un período de 60s. El tratamiento de los animales con una sustancia con propiedades ansiolíticas restablece la conducta de exploración, lo que se traduce por inducir un aumento en el número de cruces castigados.
Test de Geller Seifter y de Vogel ²⁴	Es un modelo de conflicto en el que los roedores previamente privados de alimentos tienen que "elegir" entre consumir alimentos y evitar el castigo asociado con este consumo. Los periodos de respuesta presionando una palanca para obtener leche condensada azucarada en un programa de intervalos variables se interrumpen por periodos en los que, en presencia de una señal, la recompensa se puede obtener con mayor frecuencia, pero van acompañados de leves choques en los pies. Los niveles de respuesta castigada son inversamente proporcionales al nivel de ansiedad. La reducción de la búsqueda de recompensa inducida por el shock puede revertirse mediante la administración de ansiolíticos.
Prueba de vocalizaciones ultrasónicas ²⁵	Consiste en cuatro micrófonos detectores conectados a un sistema de regulación de umbrales sonoros. El sistema de detección está conectado a un sistema de análisis y cuantificación de frecuencias. Los micrófonos se sitúan a 25 cm del suelo sobre rejillas que cubren una caja oscura (59X29X33 cm) en la que se coloca al animal. Dos detectores en extremos opuestos registran las frecuencias bajas (20-22 kHz) y otros dos, también en extremos opuestos, las frecuencias altas (50-75 kHz). Las ratas se habitúan al manejo del experimentador y a las condiciones experimentales de la sala de prueba, durante dos sesiones de 20 minutos en los 2 días previos a la sesión experimental. El día de la prueba, dependiendo de la vía de administración del fármaco a evaluar, se emplea un procedimiento diferente por el tiempo necesario para que la droga ejerza su efecto. Se aplica un estímulo aversivo (pinzamiento agudo de la cola previa colocación del animal en la caja empleada para las vocalizaciones) y se registran las vocalizaciones durante 10 minutos.
Estimulación eléctrica cerebral ²⁶	Para la estimulación cerebral se utiliza un estimulador de pulsos (parámetros de control de pulso: frecuencia, duración, repetitividad en trenes e intervalo inter-impulso) para dos salidas independientes de estimulación por corriente. Para la realización de la estimulación, cada animal es retirado de su caja hábitat y colocado en la caja de estimulación. Luego de un periodo de familiarización de un minuto, se inicia la estimulación a la combinación de frecuencia e intensidad previamente asignada al sujeto. La estimulación tiene una duración de 15 minutos continuos por día y se realiza durante tres días consecutivos. Veinticuatro horas después de la última estimulación, los animales son transportados a salas experimentales para su valoración comportamental (por ejemplo, laberinto en cruz elevado y campo abierto).
Modelo de Thiebot de retirada de la señal de seguridad ²⁷	Modelo de conflicto por retirada de señal de seguridad. Basado en la supresión de conducta operante que se produce cuando se retira una señal de seguridad condicionada. La inhibición conductual es causada por la retirada de una señal indicadora de seguridad, y no por la presentación de una señal asociada a castigo (como es el caso de los modelos clásicos). El test se realiza en jaulas de condicionamiento operante equipadas con dispensador de comida, el suelo electrificado, dos palancas y tres bombillas colocadas una encima de cada palanca y en el techo. Procedimiento: 1) Fase de entrenamiento. Los animales son sometidos a sesiones diarias de 18 minutos en las que aprenden a apretar la palanca de la derecha para obtener comida. El programa de reforzamiento es progresivamente aumentado desde RF1 (razón fija 1) hasta RF8 de manera que al doceavo día aproximadamente se consigue un patrón de respuesta estable. Durante estos días la luz de la palanca de la derecha está encendida. 2) Fase de entrenamiento. Una vez aparece un patrón de respuesta estable se introducen dos periodos de 4 minutos de castigo experimental que se alternan con 3 periodos en los que las condiciones son las mismas que las de la fase 1. Durante los periodos de castigo la luz de la palanca de la izquierda está encendida, la luz de la derecha apagada y la presión en la palanca de la derecha es reforzada (RF1) con comida y con un choque eléctrico. En estas condiciones los animales muestran respuestas estables al cabo de unos 20 días. 3) Fase de prueba. Se realiza a lo largo de tres periodos. El primero y el tercero son idénticos a los no castigados de la fase de entrenamiento (programa RF8, luz en la palanca de la derecha). En el segundo periodo la señal de seguridad de la palanca de la derecha se apaga, la señal de castigo de la palanca de la izquierda no se enciende, las respuestas son reforzadas a RF1 y no se administran choques eléctricos. En estas condiciones la ansiedad es inducida por la retirada de señal de seguridad y, si bien la conducta de apretar la palanca es únicamente reforzada con comida, el animal inhibe la respuesta. Así, es en este segundo periodo de la prueba cuando los ansiolíticos aumentan selectivamente el número de respuestas y por tanto la cantidad de comida conseguida.

Tabla 2. Pruebas de depresión/ansiedad de tipo *no condicionadas* para roedores.

Nombre de la Prueba (Ref.)	Uso	Interpretación	Pruebas complementarias recomendadas
Campo abierto ^{9, 18, 29, 30}	Mide los niveles de ansiedad y la actividad locomotriz	- Menor tiempo en el área central señala ansiedad. - Menor locomoción señala alteraciones motrices. - Alta frecuencia de estiramiento. - Aumento en el comportamiento de crianza, frecuencia de acicalamiento. *Aumento de la micción y la defecación (*controverial).	- Laberinto elevado. - Caja de luz/oscuridad.
Laberinto elevado ³¹⁻³³	Mide los niveles de ansiedad	- Menor tiempo en brazos abiertos señala ansiedad. - La evitación de los brazos abiertos constituye un índice de ansiedad del animal. - Frecuencia de estiramiento del cuerpo, sumersión de la cabeza, estiramiento con soporte a la pared y retornar al brazo cerrado, olfateo.	- Campo abierto. - Caja luz/oscuridad. - Enterramiento de canicas. - Plataforma agujereada.
Caja luz/oscuridad ³⁴⁻³⁶	Evalúa ansiedad	Mayor número de entradas en la cámara luminosa, duración de cada visita señala niveles de ansiedad.	- Campo abierto. - Natación forzada. - Suspensión de la cola.
Choque / enterramiento ³⁷	Depresión / ansiedad	- Menos movimientos con sus patas u hocico, empujando el aserrín hacia el electrodo. - Mayor inmovilidad. - Menos/más alzamientos (número de veces que se sostiene sobre sus extremidades posteriores con apoyo de sus patas anteriores o sobre alguna pared de la caja). - Menor acicalamiento (tiempo que ocupa en limpieza o aseo de su pelaje con sus patas anteriores o la lengua) - Menor exploración (actividad locomotriz).	- Caja luz-oscuridad. - Enterramiento de canicas. - Plataforma agujerada. - Natación forzada. - Suspensión de la cola. - Consumo de sacarosa.
Enterramiento de canicas ^{37, 38}	Evalúa ansiedad y compulsividad	En esta prueba, el número de canicas enterradas es asociado con el grado de ansiedad o estrés presente en un ratón. Cuando hay estrés o ansiedad, el número de canicas que el ratón entierra es mayor respecto al control.	- Choque/enterramiento. - Plataforma agujereada.
Plataforma agujereada ^{39, 40}	Evalúa ansiedad	Número de veces que el animal espía (<i>head-dipping</i>) los orificios. El número de exploraciones que guarda una relación inversa con el estado de ansiedad del animal.	- Enterramiento de canicas. - Choque/enterramiento.
Natación forzada ^{41, 42}	Evalúa depresión: mide el estado de desesperanza o desesperación	Mayor tiempo de inmovilidad o afrontamiento pasivo (tendencia al "freezing"). Señala comportamientos depresivos.	- Campo abierto. - Choque enterramiento. - Consumo de sacarosa. - Suspensión de la cola.
Consumo de sacarosa ⁴³	Evalúa depresión. La prueba evalúa anhedonia, es decir, hiposensibilidad al placer, que es un síntoma cardinal de la depresión en pacientes humanos	- Menor consumo de sacarosa indica anhedonia. - Miedo a alimentarse en un ambiente novedoso. - El comportamiento anhedónico se puede medir cuando se ofrece simultáneamente acceso a agua como a líquido endulzado. - Un sujeto sano preferirá el líquido endulzado, mientras que un animal anhedónico consumirá una solución menos dulce, pero en cantidades iguales de agua en comparación con los controles.	- Campo abierto. - Natación forzada. - Suspensión de la cola.
Suspensión de la cola ^{42, 44, 45}	Evalúa depresión: Similar a la prueba de Natación forzada, pero evita la hipotermia y el estrés asociado con la natación forzada	- Los animales se suspenden por sus colas y se mide la "inmovilidad". - Los períodos más largos de inmovilidad se asocian con mayores puntuaciones de depresión y la inmovilidad puede revertirse con el tratamiento antidepressivo.	- Natación forzada. - Consumo de sacarosa. - Campo abierto.

Tabla 3. Pruebas de depresión/ansiedad de tipo *no condicionadas* para roedores.

Generalidades

Los ratones son muy activos, ágiles y enérgicos; son nocturnos, descansan durante el día y por la noche salen a buscar alimento y socializar. Son muy sensibles a la luz y al ruido. Dejan marcas de olor en los objetos para delimitar su zona de dominio. Sus hábitos son independientes. Las ratas macho son más activas y exploradoras, tienden a ser más agresivas y dominantes. Las ratas hembras son más tranquilas y socialmente más cooperativas, tienden a ser más dóciles.

Prueba	Edad	Sexo
Campo abierto	● Ratas Sprague Dawley machos: los adultos muestran mayor interés en la exploración del entorno, menores niveles de ansiedad y mayor distancia total recorrida respecto a los juveniles, así como un mayor número eventos de rearing (levantamientos sobre las patas traseras, o actividad vertical)⁴⁶. ● Ratón C57BL/6: existen múltiples diferencias sexuales durante la mediana edad en el comportamiento, algunas de las cuales son exclusivas de esta etapa de la vida⁴⁷. ● Ratón C57BL/6J: disminuye la actividad locomotora y aumenta el tiempo pasado en el área central a mayor edad (99 respecto 8, 47 y 73 semanas de edad)⁴⁸.	● Ratas Wistar: Las hembras muestran un comportamiento menos ansioso, pasan más tiempo en la zona central, hacen más entradas a la zona central y recorren una mayor distancia que los machos⁴⁹. ● Ratón C57BL/6: Los machos muestran mejores resultados en las pruebas de función motora y menos conductas similares a la depresión y la ansiedad⁴⁷.
Laberinto elevado	● Ratón C57BL/6J: a mayor edad menos ansiedad ratones de 22-24 meses pasan más tiempo y tienen más entradas en los brazos abiertos en comparación con los ratones jóvenes (3-4 meses)⁵⁰ disminuye la actividad locomotora a mayor edad pero no hay diferencias entre las edades del tiempo que pasan en el centro⁴⁸.	● Ratas Wistar: Las hembras muestran un comportamiento menos ansioso, pasan más tiempo en los brazos abiertos y realizan más entradas a los brazos abiertos, además recorren más distancias que los machos⁴⁹.
Caja luz / oscuridad	● C57BL/6J: Disminuye la actividad locomotora y aumenta el comportamiento similar a la ansiedad en ratones de edad avanzada (99 semanas) en comparación con los de ratones jóvenes (8 semanas) y de mediana edad (47 y 73 semanas)⁴⁸.	● No hay reportes aún.
Enterramiento de canicas	● No hay reportes aún.	● CD-1: no hay diferencias⁵¹.
Natación forzada	● Ratas Sprague Dawley machos: mayor inmovilización en los animales adultos (10 semanas) respecto a los juveniles (4 semanas), pero sin diferencias en el tiempo de nado y escalado⁴⁶. ● Ratas Wistar: Ratas prepubertas (24 días post-natal): menor inmovilización que las pubertas (40 días post-natal) y tendencia de menor inmovilización que las adultas⁵². En la senectud el patrón es igual⁵³. Adulto joven (3-5 meses): menor inmovilidad mediana edad (12-15 meses): menor inmovilidad; senescente (23-25 meses): más inmovilidad⁵³. ● C57BL/6J machos: Los ratones de 24 meses presentan más inmovilidad que los de 2, 11 y 17 meses de edad⁴⁸.	● Ratas Wistar: Hembras adultas jóvenes y de mediana edad muestran menos inmovilidad que los machos. Hembras adultas mayor inmovilidad que machos adultos, sin embargo en ciertas fases del ciclo podrían generar resultados falsos negativos. Las hembras (adultas jóvenes) en proestro/estro muestran niveles de inmovilidad ligeramente inferiores que las hembras en metestro/diestro^{53,54}. Hembras adultas menor inmovilidad que machos adultos⁵². ● C57BL/6N: no hay diferencias entre macho y hembras adultos (de 14 semanas de edad)⁵⁵.
Consumo de sacarosa	● CD1: Las hembras consumen más pellets dulces que los machos, especialmente a una edad más avanzada⁵⁶.	● CD1: las hembras tienden a consumir más solución azucarada que los machos⁵⁶. ● C57BL/6N: no hay diferencias entre ratones adultos machos y hembras⁵⁶.
Suspensión de la cola	● C57BL/6J machos: los ratones de mayor edad (99 semanas) presentan más inmovilidad que los más jóvenes (8, 47 y 73 semanas) al inicio de la prueba pero al final de la prueba presentan menos inmovilidad⁴⁸.	● C57BL/6N: no hay diferencias entre ratones adultos machos y hembras⁵⁵.

nativas que prescindan de su uso. Al día de hoy estas medidas son una pauta internacional que certifica la calidad de la investigación con animales⁵⁷. En este sentido el diseño intrasujetos (realizar medidas repetidas del mismo sujeto) es óptimo para algunas pruebas como el ensayo de enterramiento de canicas, ya que reduce la cantidad de animales y aumenta el poder estadístico^{38,51}. Además, el investigador debe basarse en los 5 dominios (anteriormente llamadas libertades, creadas en 1965 en Inglaterra) que contemplan los aspectos de nutrición, medio ambiente, salud, comportamiento, y estado mental relacionado con las interacciones sociales y la experiencia afectiva del animal⁶⁰.

El Comité interno de cuidado y uso de animales de laboratorio (CICUAL) es el encargado de velar por el bienestar de los animales según sus condiciones y se encarga de delimitar el propósito científico-

co de las distintas investigaciones, el cual debe plantearse claramente para que sea justificado el uso de animales de experimentación, especialmente en lo que tiene que ver con balance entre daño a los sujetos y beneficio a la sociedad⁵⁸. Se deben considerar los principios de no maleficencia y de máximo beneficio con un mínimo de sufrimiento en los animales.

Respecto a las pruebas conductuales, los modelos animales ofrecen al investigador la factibilidad de estudiarlos bajo ciertas condiciones controladas de fenómenos semejantes a los que se presentan en la depresión, ansiedad, fobias, trastornos psicopatológicos, psicosis, hiperactividad, problemas de aprendizaje, obesidad, adicción, entre otros⁶¹. Cabe señalar, que cuando se utilizan tales modelos, es posible la manipulación activa de variables presentes en estos desórdenes. Para tal efecto la Asociación Psicológica Americana-

na ha creado el "Committee on Animal Research and Ethics (CARE)" para vigilar la investigación y la enseñanza animal en psicología aunado a la información del libro "Ethics in Social and Behavioural Research", cuyo propósito es ayudar a los científicos en tomar decisiones éticas⁶². Es importante concientizar sobre la importancia que tiene el bienestar animal durante el desarrollo de una actividad de investigación, no solo por la reducción de las variables derivadas del estrés y malas condiciones (físicas, conductuales y/o ambientales), sino también por la necesidad de realizar una actividad bioéticamente aceptable que pueda someterse al escrutinio social.

CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS PARA PRUEBAS DE DEPRESIÓN Y ANSIEDAD

Para una correcta evaluación de las pruebas conductuales, es crucial distinguir entre el dolor y los comportamientos asociados con la depresión y la ansiedad. El dolor crónico de un animal puede influir en su estado emocional, por lo tanto, el dolor debe ser evaluado basándose en:

- La observación cuidadosa del comportamiento de los animales (cambios en la postura, la locomoción o la expresión facial), para lo cual puede emplearse la llamada escala de los "gestos"⁶²⁻⁶⁵ (Figura 2) la cual es funcional para evitar el sufrimiento de los animales y, en caso necesario, retirarlo del estudio al que se encuentre sometido. Además de evaluar el

dolor, se deben utilizar métodos específicos para evaluar comportamientos asociados con depresión y ansiedad, como la anhedonia (reducción del interés o placer por actividades cotidianas), la disminución de la actividad motora y los cambios en los patrones de sueño.

- La medición de parámetros fisiológicos como la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria y los niveles de cortisol en la sangre. Sin embargo, es importante tener en cuenta que estos parámetros pueden estar influenciados por otros factores además del dolor como son los efectos colaterales de los fármacos que se estén utilizando en la prueba.

Uno de los protocolos más usados en investigación con animales de laboratorio es el publicado por Morton y Griffiths en 1985, el cual puntúa (de 0 a 3) 5 condiciones de valoración en los animales: Pérdida de peso, aspecto físico, comportamiento espontáneo, comportamiento en respuesta a la manipulación y constantes vitales. En donde las medidas correctoras en función de la puntuación obtenida pueden ir desde ser consideradas normales hasta la eutanasia del animal⁶².

CONCLUSIONES

Aunque los modelos animales ayudan a comprender trastornos psiquiátricos, tienen limitaciones ya que no se pueden observar

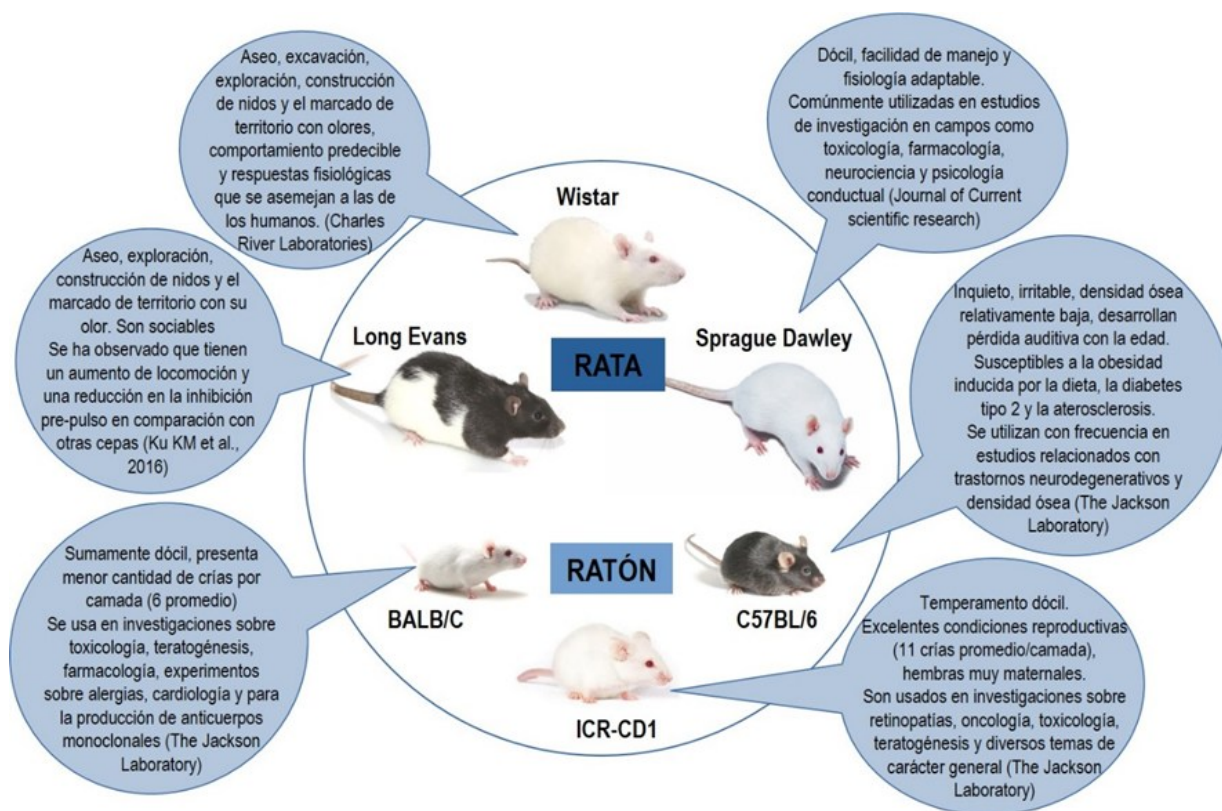
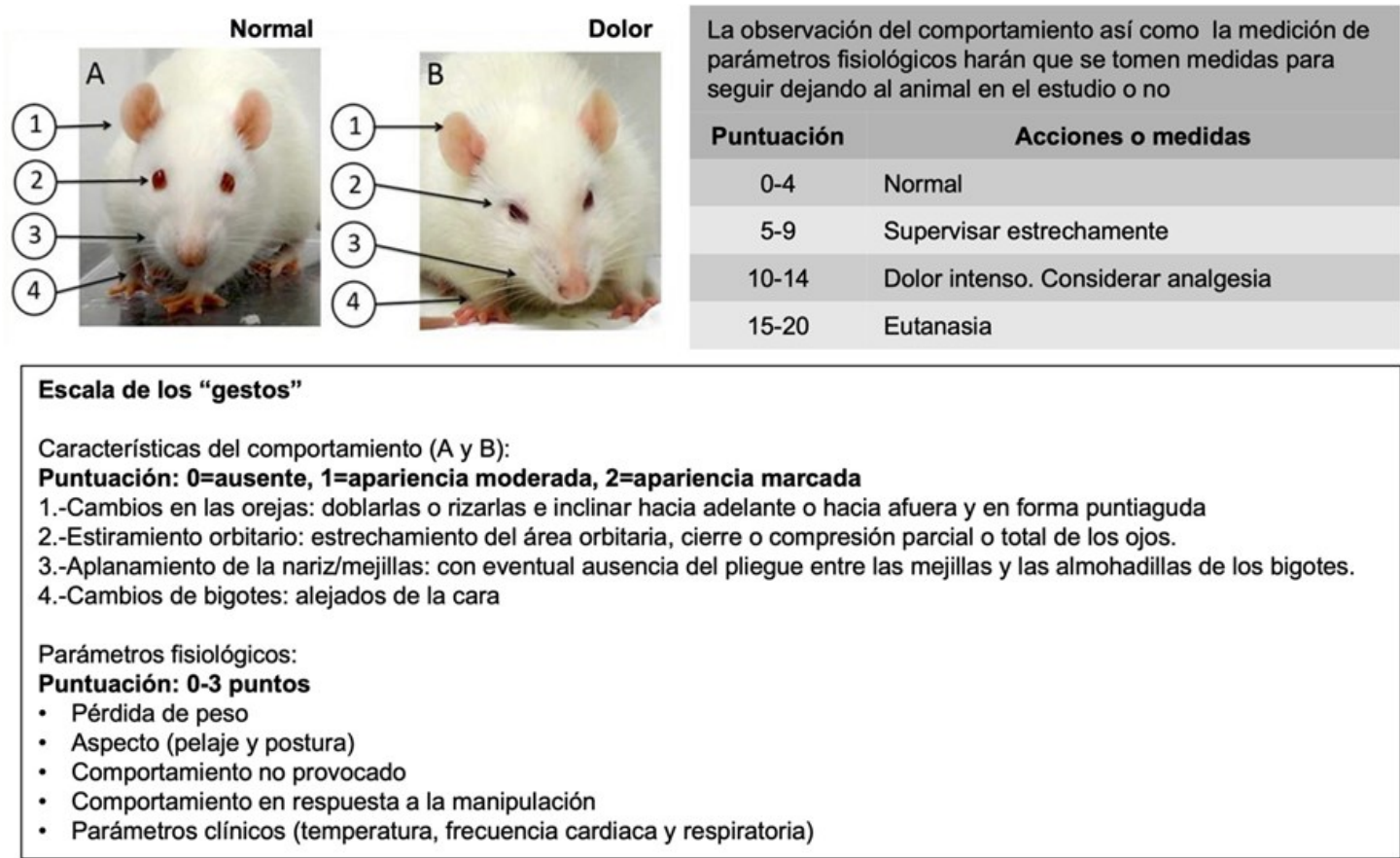


Figura 1. Estirpes de murinos más empleadas en el campo de la investigación y su comportamiento habitual.



17. Song J, Kim Y-K. Animal models for the study of depressive disorder. *CNS Neurosci Therap*. 2021; 27(6): 633-642. DOI: [10.1111/cns.13622](https://doi.org/10.1111/cns.13622)
18. Rejón-Orantes JDC, Placer D, Roldán G. Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas. *Universitas Médica*. 2011; 52(1): 78-89. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2310/231019866006.pdf>
19. Ribes E. ¿Por qué es necesario estudiar el comportamiento animal? *Suma psicológica*. 2011; 18(1): 9-15. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1342/134218661002.pdf>
20. Fornaguera J, Sequeira A. Diferencias individuales en modelos animales: un enfoque para el estudio de factores neurobiológicos relacionados con depresión. *Actualidades en Psicología*. 2014; 28: 53-66. DOI: [10.15517/ap.v28i117.14115](https://doi.org/10.15517/ap.v28i117.14115)
21. Paguay OC. Guía para el Desarrollo de Prácticas con Sujetos Experimentales en el Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Animal. Editorial UPTC; 2021. DOI: [10.19053/9789586605830](https://doi.org/10.19053/9789586605830)
22. Martin D. Psicología experimental: como hacer experimentos en psicología. Cengage Learning; Domjan, M. Principios de Aprendizaje y Conducta. 6ª Edición. México: Cengage Learning; 2010.
23. Bourin M, Hascoët M. Implication of 5-HT₂ receptor subtypes in the mechanism of action of the GABAergic compound etifoxine in the "four-plate" test in Swiss mice. *Behavioural Brain Res*. 2010; 208(2): 352-358. DOI: [10.1016/j.bbr.2009.11.046](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.11.046)
24. Alcalá JA, González G, Aristizabal JA, Callejas-Aguilera JE, Rosas JM. Discrimination Reversal Facilitates Contextual Conditioning in Rats' Appetitive conditioning. *Psicológica*. 2018; 39: 64-87. DOI: [10.2478/psicolj-2018-0004](https://doi.org/10.2478/psicolj-2018-0004)
25. Pardo M, Escrig MA, Caballer G, González CM, Correa M. Vocalizaciones ultrasónicas: Nuevo paradigma para el registro de respuestas emocionales no aprendidas en animales. *Forum* 2006. Repositorio UJI. Disponible en: https://repositorio.uji.es/xmlui/bitstream/handle/10234/78589/forum_2006_10.pdf?sequence=1
26. Herrera ML, Rubio NG, Quintanilla JP, Huerta V, Osorio-Forero A, Cárdenas MAN, et al. Efectos de la estimulación eléctrica habenular en la modulación de respuestas emocionales en ratas Wistar. *Acta Colomb Psicol*. 2018; 21: 212-223. DOI: [10.14718/ACP.2018.21.2.10](https://doi.org/10.14718/ACP.2018.21.2.10)
27. Ruiz P. El rol de los modelos animales en la historia de la formación de psicólogos en Uruguay. *Cuadernos de Neuropsicología / Panamerican Journal of Neuropsychology*. 2023; 17(1): 62-69. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9223922>
28. Gómez C, Saldivar JA, Rodríguez R. Modelos animales para el estudio de la ansiedad: una aproximación crítica. *Salud Mental*. 2002; 25(1): 14-24. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/582/58212504.pdf>
29. Tatem KS, Quinn JL, Phadke A, Yu Q, Gordish-Dressman H, Nagaraju K. Behavioral and Locomotor Measurements Using an Open Field Activity Monitoring System for Skeletal Muscle Diseases. *J Vis Exp*. 2014; 91: 51785. DOI: [10.3791/51785](https://doi.org/10.3791/51785)
30. Krauter A-K, Guest PC, Sarayai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Pre-Clinical Models. Methods Mol Biol*. 2019; 1916: 99-103. DOI: [10.1007/978-1-4939-8994-2_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_9)
31. Reddy RCS, Kumar P. Elevated Plus Maze for Assessment of Anxiety and Memory in Rodents. *Methods Mol Biol*. 2024; 2761: 9396. DOI: [10.1007/978-1-0716-3662-6_8](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3662-6_8)
32. Krauter A-K, Guest PC, Sarayai Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. *Methods Mol Biol*. 2019; 1916: 69-74. DOI: [10.1007/978-1-4939-8994-2_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_4)
33. Reddy RCS, Kumar P. Elevated Plus Maze for Assessment of Anxiety and Memory in Rodents. *Methods Mol Biol*. 2024; 2761: 9396. DOI: [10.1007/978-1-0716-3662-6_8](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3662-6_8)
34. Narayanan SN, Kumar RS. An improved light dark box test by using a real-time video tracking system. *Acta Biologica Hungarica Eur J Pharmacol*. 2018; 69: 371-384. DOI: [10.1556/018.69.2018.4.1](https://doi.org/10.1556/018.69.2018.4.1)
35. Bloch S, Belzung C. The Light-Dark Box Test in the Mouse. *Psychiatr Vul Mood Anxiety Dis*. 2022; 190: 31-41. DOI: [10.1007/978-1-0716-2748-8_3](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2748-8_3)
36. Takao K, Miyakawa T. Light/dark transition test for mice. *J Vis Exp*. 2006; 13: 104. DOI: [10.3791/104](https://doi.org/10.3791/104)
37. Himanshu, Dharmila, Sarkar D, Nutan. A Review of Behavioral Tests to Evaluate Different Types of Anxiety and Anti-anxiety Effects. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2020; 18: 341-351. DOI: [10.9758/cpn.2020.18.3.341](https://doi.org/10.9758/cpn.2020.18.3.341)
38. Menashe N, Salama Y, Steinauer ML, Spaan JM. Do behavioral test scores represent repeatable phenotypes of female mice? *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2022; 115: 107170. DOI: [10.1016/j.vascn.2022.107170](https://doi.org/10.1016/j.vascn.2022.107170)
39. Saitoh A, Hirose N, Yamada M, Yamada M, Nozaki C, Oka T, et al. Changes in emotional behavior of mice in the hole-board test after olfactory bulbectomy. *J Pharmacol Sci*. 2006; 102(4): 377-86. DOI: [10.1254/jphs.fp0060837](https://doi.org/10.1254/jphs.fp0060837)
40. Hirose N, Saitoh A, Kamei J. Involvement of glutamatergic N-methyl-D-aspartate receptors in the expression of increased head-dipping behaviors in the hole-board tests of olfactory bulbectomized mice. *Behav Brain Res*. 2016; 312: 313-20. DOI: [10.1016/j.bbr.2016.06.045](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.045)
41. Briones-Aranda A, López-Rubalcava C, Picazo O. Influence of forced swimming-induced stress on the anxiolytic-like effect of 5HT(1A) agents in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002; 162: 147-55. DOI: [10.1007/s00213-002-1046-x](https://doi.org/10.1007/s00213-002-1046-x)
42. Kulkarni SK, Dhir A. Effect of various classes of antidepressants in behavioral paradigms of despair. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007; 31: 1248-54. DOI: [10.1016/j.pnpbp.2007.05.002](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.05.002)
43. Klein S, Bankstahl JP, Löscher W, Bankstahl M. Sucrose consumption test reveals pharmacoresistant depression-associated behavior in two mouse models of temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol*. 2015; 263: 263-71. DOI: [10.1016/j.expneurol.2014.09.004](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.09.004)
44. Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005; 29(4-5): 571-625. DOI: [10.1016/j.neubiorev.2005.03.009](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.009)
45. Can A, Dao DT, Terrillion CE, Piantadosi SC, Bhat S, Gould TD. The tail suspension test. *J Vis Exp*. 2012; (59): e3769. DOI: [10.3791/3769](https://doi.org/10.3791/3769)
46. Coronel CM, Pacheco R. Ontogenia del comportamiento en ratas en una batería de pruebas conductuales. *Salus*. 2018; 22(1): 18-25.
47. Dockman RL, Carpenter JM, Diaz AN, Benbow RA, Filipov NM. Sex differences in behavior, response to LPS, and glucose homeostasis in middle-aged mice. *Behav Brain Res*. 2022; 418: 113628. DOI: [10.1016/j.bbr.2021.113628](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113628)
48. Shoji H, Miyakawa T. Age-related behavioral changes from young to old age in male mice of a C57BL/6J strain maintained under a genetic stability program. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2019; 39(2): 100-118. DOI: [10.1002/npr.12052](https://doi.org/10.1002/npr.12052)
49. Knight P, Chellian R, Wilson R, Behnood-Rod A, Panunzio S, Bruijnzeel AW. Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2021; 204: 173168. DOI: [10.1016/j.pbb.2021.173168](https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173168)
50. Gaspar L, Bartman S, Coppotelli G, Ross JM. Effect of apparatus characteristics on anxiety-like behavior in young adult and old mice of both sexes assessed by the elevated plus maze assay. *Front Behav Neurosci*. 2023; 17: 1182661. DOI: [10.3389/fnbeh.2023.1182661](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1182661)
51. Partridge KJ, Olson R, Hillhouse TM. Methodological approach: using a within-subjects design in the marble burying assay. *Behav Pharmacol*. 2023; 34(8): 494-499. DOI: [10.1097/FBP.0000000000000752](https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000752)
52. Gómez ML, Martínez-Mota L, Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A. Influence of the brain sexual differentiation process on despair and antidepressant-like effect of fluoxetine in the rat forced swim test. *Neuroscience*. 2014; 261: 11-22. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2013.12.035](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.12.035)
53. Fernández-Guasti A, Olivares-Nazario M, Reyes R, Martínez-Mota L. Sex and age differences in the antidepressant-like effect of fluoxetine in the forced swim test. *Pharmacol Biochem Behav*. 2017; 152: 81-89. DOI: [10.1016/j.pbb.2016.01.011](https://doi.org/10.1016/j.pbb.2016.01.011)
54. Kokras N, Antoniou K, Mikail HG, Kafetzopoulos V, Papadopoulou-Daifoti Z, Dalla C. Forced swim test: What about females? *Neuropharmacology*. 2015; 99: 408-21. DOI: [10.1016/j.neuropharm.2015.03.016](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.03.016)
55. Pitzer C, Kurpiers B, Eltokhi A. Sex Differences in Depression-Like Behaviors in Adult Mice Depend on Endophenotype and Strain. *Front Behav Neurosci*. 2022; 16: 838122. DOI: [10.3389/fnbeh.2022.838122](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.838122)
56. Matas-Navarro P, Carratalá-Ros C, Olivares-García R, Martínez-Verdú A, Salomone JD, Correa M. Sex and age differences in mice models of effort-based decision-making and anergia in depression: the role of dopamine, and cerebral-dopamine-neurotrophic-factor. *Psychopharmacology (Berl)*. 2023; 240(11): 2285-2302. DOI: [10.1007/s00213-023-06430-7](https://doi.org/10.1007/s00213-023-06430-7)
57. Ética de la Investigación con animales. *Gaceta CONBioÉtica*. 2015; 16: 1-40.
58. Manrique A, Medina M. Ética de investigación en animales. *Enseñanza Transversal en Bioética y Bioderecho: Cuadernillos Digitales de Casos. Biblioteca Jurídica-Virtual*. 2019; 1-47. Disponible en: <http://ru.juridicas.unam.mx:80/xmlui/handle/123456789/57335>
59. Pérez M, Camiña M, González A, Hernández D. La ética en la experimentación animal: el principio de las tres erres. *IBADER*. 2018: 1-31.
60. Álvarez P, Vázquez J, Hernández J, Rodríguez J, Montero N, Gamboa S, et al. Modelo de los cinco dominios para la evaluación del bienestar animal caso de un león africano (*Panthera leo*). *Rev Inv Vet Perú*. 2023; 34: 1-7. DOI: [10.15381/rivep.v34i3.23920](https://doi.org/10.15381/rivep.v34i3.23920)
61. Canadian Council on Animal Care (CCAC). Guide to the care and use of experimental animals. Ontario, Canada: Canadian Council on Animal Care. Cap.: XIII. El uso de animales en Psicología 2011; 8ª Edición.

62. Morton DB, Griffiths PHM. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Veterinary Record*. 1985; 116: 431-6.
63. Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, Tuttle AH, Martin LJ, Wieskopf JS, et al. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol Pain*. 2011; 7: 55. DOI: [10.1186/1744-8069-7-55](https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-55)
64. Mota-Rojas D, Olmos-Hernández A, Verduzco-Mendoza A, Hernández E, Martínez-Burnes J, Whittaker AL. The Utility of Grimace Scales for Practical Pain Assessment in Laboratory Animals. *Animals (Basel)*. 2020; 10: 1838. DOI: [10.3390/ani10101838](https://doi.org/10.3390/ani10101838)

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declararon que no tienen conflictos de intereses.

FINANCIAMIENTO

Los autores declararon que no existieron fuentes de financiamiento provenientes de personas físicas o morales para la planeación, desarrollo, redacción y/o publicación del presente trabajo.

PRESENTACIONES PREVIAS

Ninguna.