



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

IV. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2021eko ekainaren 9, 10 eta 11a
Gasteiz, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

OSASUN ZIENTZIAK

**Aurresan ezin den Estres Kroniko
Moderatua (Chronic Unpredictable
Mild Stress, CUMS):
depresioaren animalia-eredua**

*Ines Erkizia, Jorge E. Ortega
eta Igor Horrillo*

45-51 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iv.04.05>



Aurrean ezin den Estres Kroniko Moderatua (Chronic Unpredictable Mild Stress, CUMS): depresioaren animalia-eredua

Erkizia-Santamaria, I.¹, Ortega, J.E.^{1,2,3}, Horrillo, I.^{1,2}

¹*Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Farmakologia Saila. Leioa, Bizkaia*

²*Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM)*

³*Biocruces Bizkaia*

ines.erkizia@ehu.eus

Laburpena

Depresioa gaixotasun mental garrantzitsuenetakoa da egungo gizartean. Haren oinarri neurobiologikoak erabat argi ez dauden arren, bai faktore biologikoek, bai ingurumenekoek ere depresioa garatzeko arriskua areagotzen dutela jakina da. Azken hauen artean aipatzekoa da estresa, ikerketa anitzek deskribatu baitute estresaren eta depresioaren arteko erlazioa. Gaixotasun psikiatrikoen ikerketarako funtsezkoak dira animalia-ereduak. Kasu honetan, estres kronikoa eragitean oinarritzen den animalia-eredu baten garapena burutu da. *Chronic Unpredictable Mild Stress* (CUMS) baliotasun handiko depresioaren eredua da, karraskarietan erabiltzen dena. Ikerketa honetan, portaera-froen bidez nahiz markatzaile biologikoak neurtuz, animalia-ereduaren ebaluazioa burutu dugu.

Hitz-gakoak: depresioa; estresa; animalia-ereduak; neuropsikofarmakologia.

Abstract

Depression is one of the most relevant mental diseases in current society. Its neurobiological bases have yet not been elucidated, but it is well known that biological and environmental factors play an important role in the development of the condition. Stress has been established as one of the main contributors, as research studies have correlated it with the disease. Animal models are essential for the research of psychiatric disorders. In this case, an animal model based on the exposure to chronic stress has been developed. Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS) is a widely used rodent model of depression, which has high validity. In the current study, the model has been produced and evaluated through behavioural tests and biological marker measurements.

Keywords: depression; stress; animal-models; neuropsychopharmacology.

1. Sarrera eta motibazioak

Gaixotasun mentalen artean, depresioa ohikoena da gaur egun, izan ere, mundu mailan 250 milioi pertsona baino gehiagok pairatzen du, Munduko Osasun Erakundearen arabera (WHO, 2020). Bere intzidentziak gorakada izan du azken urteetan, eta joera hori mantentzen ari dela dirudi, hamarkada honen amaieran ezgaitasun-kausarik ohikoena izango dela estimatzen baitute adituek (Malhi eta Mann, 2018). Depresioaren prebalentzia emakumezkoengan gizonezkoengan neurtu denaren bikoitza da (Malhi eta Mann, 2018).

Depresioaren sintoma nagusiak, Gaixotasun Mentalen Eskuliburu Diagnostiko eta Estatistikoak (DSM-V) jasotzen dituen moduan, bederatzi multzok osatzen dituzte: tristura, barne-hustasuna eta itxaropen eza; anhedonia (plazerra sentitzeko ezgaitasuna); pisua galtzea edo irabaztea eta jateko gogoaren galera; insomnioa edo hipersomnia; atzerapen psikomotorea; energia falta eta nekea; arreta mantentzeko zailtasuna; gutxiespen eta erruduntasun sentimenduak; eta heriotzaren edo suizidioaren inguruko ideiak (American Psychiatric Association, 2013). Huez gain, oso ohikoa da paziente deprimituek antsietatea pairatzea, eta maiz oroimena nahiz beste funtzio kognitiboak ere kaltetuta daude gaixoetan. Sintoma hauek guztiek ezgaitasunera eramaten dute pazienteak, eta kasurik larrietan suizidioa ere ekar dezakete.

Depresioaren tratamendu farmakologikoa psikoterapiarekin konbinatu ohi da, sintomen maneiu optimoa bilatzeko. Antidepressiboek dagokionez, hainbat multzotan sailkatzen dira, haien ekintza mekanismoaren arabera. Era berean, ekintza mekanismo ezberdineko antidepressiboek indikazio ezberdinak dituzte, eta pazientearen ezaugarriekin hobekien egokitzen direnen hautaketa egiten dute lehen mailako arretaren medikuek nahiz psikiatreek. Gehien preskribatzen diren antidepressibo klasikoek monoaminen eskuragarritasuna areagotzen dute, eta zenbait azpitaldetan sailkatzen dira: monoaminoxidasen inhibitzaileak, antidepressibo triziklikoak eta monoaminen birxurgapenaren inhibitzaileak. Erabilera mugatuagoa duten beste antidepressibo klasikoaren artean trazodona eta mirtazapina dira aipagarriak. Berriki garatu diren beste batzuek agomelatina, tianeptina edo bortioxetina esaterako, mekanismo alternatiboak dauzkate, baina haien eraginkortasuna murriztagoa da orokorrean. Depresioaren tratamendu farmakologikoan eman den azken aurrerapausoa ketaminaren onarpena izan da: berehalako eragin antidepressiboa duela erakutsi du entsegu klinikoetan, baita depresio erresistentean ere (Molero et al., 2018). Patologiaren oinarri neurobiologikoak ez daude guztiz argi, hori dela eta tratamendua ez da erabat eraginkorra: pazienteen heren batek ez dio farmakoei erantzuten. Hori horrela, ezinbestekoa da tratamenduaren eraginkortasun-tasa areagotzeko gaixotasunaren kausak eta alterazio neurobiologikoak ikertzea.

1.1. Depresioaren etiologia

Depresioaren etiologia ezezaguna da oraindik, eta faktore anitzek eragiten dute gaixotasunaren agerpenean; genetikoak eta psikosozialak, nahiz neurotransmisioaren, hormonon, immunitate-sistemaren eta neurogenesiararen asaldurak. Gaixo deprimituen organismoan hainbat desoreka deskribatu dira: hipotalamo-hipofisi-adrenal (HHA) ardatzaren hiperaktibazioa, erantzun immunearen erregulazio okerra, nerbio-sistema sinpatikoaren eta parasinpatikoaren arteko desoreka eta abar (Nedic Erjavec et al., 2021). Estres kronikoarekiko esposizioak ere paper garrantzitsua jokatzen du depresioaren agerpenenean nahiz fisiopatologian. Izan ere, populazioaren estres-mailak gora egin du azken hamarkadetan, garapen sozial eta ekonomikoaren hazkuntza direla eta (Iwata et al., 2012). Estimulu estresagarriak, bai psikologiko bai fisikoak, depresioarekin lotu dira, erantzun immunea eta inflamazio-prozesuak abiarazi ditzaketela postulatu baita. Zentzu honetan, hainbat biomarkatzaile identifikatu dira depresioa eta inflamazioa elkar erlazionatu dituztenak.

Alde batetik, HHA ardatza estres erantzuna erregulatzeaz arduratzen da, bere rol fisiologikoa erantzun neuroendokrinoen sorrera integratua baita; kanpotik nahiz barnetik datozen estres-estimuluei aurre egiteko, eta organismoaren biziraupena bermatzeko. Seinalizazio bide honen asaldurak deskribatu dira behin eta berriro gaixo deprimituetan: pazienteen %73k kortisolaren kontzentrazio areagotuak dauzka odolean (Nedic Erjavec et al., 2021), hipofisiaren tamaina eta aktibitatea ere handituak agertzen dira (Nemeroff eta Vale, 2005), glukokortikoideen hartzaileen (GR) desentsibilizazioa eta funtzio okerra pairatzen dute, eta ardatzaren *feedback* negatiboak huts egiten du. Ez hori bakarrik, HHA-ren gainaktibazioa eta kortisol areagotua tratamendu antidepressiboarekiko erantzun gabeziarekin ere lotu dira, baita anhedonia maila altuagoarekin ere. Gainera, estres goiztiarra pairatu duten pazienteek HHA ardatzaren alterazioak aurkezten dituzte (Nedic Erjavec et al., 2021).

Beste alde batetik, paziente deprimituen sistema immunearen anormaltasunak deskribatu dira behin eta berriro; bai periferian, bai maila zentralean ere. Horrek depresioaren teoria neuroinflamatorioaren garapena ekarri du. Hipotesi horren arabera, periferiako zitokina proinflamatorioek hantura zentrala eragiten dute, eta, epe luzean, garuneko zenbait eremuren atrofia eta neurogenesiararen kalteak sortuko lituzkete. Depresioarekin lotu diren hanturaren biomarkatzaile garrantzitsuenak interleukina-6 (IL-6) eta C proteina erreaktiboa (CRP) izan dira, korrelazio estua erakutsi baitute anhedoniarekin (Troubat et al., 2020).

Estres-erantzunaren sistema estuki lotuta dago sistema immunearen funtzioarekin: estres kronikoak gradu baxuko inflamazioa eragin dezake eta HHA ardatzaren disfuntzioa hantura-erantzunean askatzen diren mezulariekin (zitokinak) erlazionatu da (Nedic Erjavec et al., 2021). Estresa depresioa garatzeko arrisku faktore nagusien artean dago. Gaixotasunaren eta estres kronikoaren arteko erlazioa ikerketa ugari kontsolidatu duten arren, mekanismo zehatzak ikertzeko premia eztabaia da.

1.2. Depresioaren animalia-ereduak

Depresioa eta beste gaitz psikiatriko ugari aztertzeko ezinbestekoa da animalia-ereduen erabilera. Gaixotasunaren sintoma bat edo gehiago erreplikatzeko dituzte, eta oinarri biologiko eta fisiopatologikoa aztertzen laguntzen dute. Era berean, tratamendu farmakologikoaren ebaluazioa gauzatzeko erabilgarriak dira. Animalia-ereduek hiru baliotasun-irizpide nagusi bete behar dituzte: **eduki-baliotasuna**, animalia-ereduaren eta gaixoen sintomatologiaren antzekotasuna jasotzen duena; **konstruktibaliotasuna**, animalia-eredua gizakietan behatzen diren alterazioetan oinarritzen dena; **aurreikuspen-baliotasuna**, patologia tratatzeko erabiltzen diren farmakoek animalia-ereduaren sintomak arintzeko gaitasuna duena (Willner, 2017a). Depresioaren animalia-eredu anitz garatu eta erabili dira, gaixotasunaren faktore etiologikoetan oinarrituz: ingurune balditzen aldaketa, estres kroniko edo akutuen esposizioa, farmakoen administrazioa... Beste eredu batzuek, konstruktibaliotasunik ez duten arren, sintomen erreproduzio egokia eskaintzen dute, hala nola prozedura kirurgikoen (usain-bulbektomia) edo manipulazio genetikoak. Hala, haien guztien artean *Chronic Unpredictable Mild Stress* (CUMS, Aurrean ezin den Estres Kroniko Moderatua) ereduaren erabilera oso hedatua dago. 80ko hamarkadan garatu zen (Katz, 1982), eta depresioa ikertzeko ereduaren artean fidagarri eta sendo sailkatzen da, hain zuzen, aipatutako baliotasun irizpideak betetzen dituelako (Willner, 2017a). Karraskariekin erabiltzen den animalia-eredua da, bai arratoiekin eta baita saguekin ere.

CUMS animalia-ereduan depresioarekin lotutako asaldura biokimiko eta neurokimikoak behatu dira. Esaterako, HHA ardatzaren gehiegizko aktibitatea, kortikosterona maila areagotuak, hipokanpoaren tamaina murriztua, garunazal prefrontalaren kalteak eta atrofia, amigdalaren funtzioaren handipena, neurotoxikotasuna eragiten duten prozesu biokimikoak (kinureninen bide metabolikoaren gainaktibazioa), eta abar (Willner, 2017a).

Animalia-ereduen portaeraren alterazioak ebaluatzeko portaera frogak espezifikoak erabiltzen dira, kasu honetan, depresioaren sintomen adierazle direnak. Azukrearekiko zaletasunaren frogak (*Sugar Preference Test*, SP), anhedonia neurtzeko baliatzen da. Animalia normalek azukrearekiko zaletasuna garatzen dute azukredun ura eta ur soila aldi berean eskaintzen zaizkienean; aldiz, anhedonia, pairatzen duten animaliek ez dute zaletasun hori garatzen, ordainsari-zirkuituen alterazioak agertzen baitira (Willner, 2005). Sintoma prodepresiboak eta farmako antidepresiboak identifikatzeko frogak garrantzitsuenen artean, behartutako igeriketaren frogak dugu (*Forced Swimming Test*, FST). Bertan, karraskariak urez betetako kubeta batean sartzen dira, eta 4-6 minututako denbora tartean igeriketa eta geldirik egotearen portaerak kuantifikatzen dira. Geldirik geratzen diren animaliek etsipena adierazten dutela onartzen da (Castagné et al., 2011), eta gertakari hau egoera depresiboarekin erlazionatu da. Antsietatea, depresioarekin batera agertzen den ohiko sintoma izanik, gurutze goratuaren labirintoa (*Elevated Plus Maze*, EPM) izeneko frogan neurtzen da (Carobrez eta Bertoglio, 2005). Bertan, sagua edo arratoia gurutze formako egitura batean kokatzen da, bi beso ireki eta beste bi estalita dituen. Antsietate mailaren arabera portaera erakusten du animaliak 5 minutu irauten dituen frogan. Hori horrela, antsietate-maila normala duenean, karraskariak miatzeko joera duenez, beso irekietan igeritzen du denbora gehiena. Aldiz, antsietate-maila altua beso irekietan pasatako denboraren murrizketarekin erlazionatu da.

CUMS animaliek sintomatologia depresiboa aurkezten dute azaldutako portaera-frogetan. SP frogak kronikoki estresatutako animaliek anhedonia pairatzen dutela demostratzen du, azukrea duen uraren kontsumo baxuagoa dutelako kontrolen aldean; FST-an, geldirik dauden denbora luzeagoa da CUMS animalietan, etsipen jokabidearen adierazle (Willner, 2005). Antsietate mailari dagokionez, estres kronikoa jasandako animaliek denbora laburragoa pasatzen dute EPM-aren beso irekietan (Monteiro et al., 2014). Sintoma depresiboen indikatibo diren beste ezaugarri batzuk ere agerikoak dira estres prozedurak jaso dituzten animalietan, adibidez, pisu-hartzearen murrizketa, ilajearen egoera hondatzea, eta abar (Nollet et al., 2013). Farmako antidepresiboen tratamendu kronikoak portaera anormal hauen leheneratzea lortzen du, hain zuzen ere aipatutako aurreikuspen-baliotasun irizpidea betetzen baitu.

CUMS ereduak garatzeko protokolo ezberdinak erabiltzen dira ikerketa-laboretegi ezberdinetan, ez dago prozedura estandarizaturik eta metodologia bakoitzak emaitza aldakorak izan ditzake animalien

portaeran nahiz aldaketa bio-neurokimikoetan (Willner, 2005). Orokorrean, modu aleatorioan aplikatutako estres estimuluaren egutegi bat aplikatzen zaie animaliei, zenbait astetako iraupena duena, 4-8 aste bitartean kasu gehienetan. Erabiltzen diren estimulu estresagarrien intentsitatea arina edo moderatua izan behar da, era akutuan animalia-ongizatearentzat kaltegarriak izan gabe, baina era kronikoan aplikatuta, sintoma prodepresiboak eragingo dituztenak. Era berean, estimuluaren ordena ausazkoa mantentzea garrantzitsua da animaliak ohitu ez daitezela (Nollet et al., 2013; Muscat eta Willner, 1992). CUMS protokoloetan erabiltzen diren estimulu estresagarrien artean ohikoena hurrengoak dira: kaiolako lurra bustitzea edo erabat kentzea, kaiolaren inklinazioa, argi-iluntasun zikloaren disrupzioa, janari- edo/eta ur-gabezia, mugimenduen murrizketa, ingurugiroan zarata sortzea, ur hotzean igeriketa, eta abar (Willner, 2017b). Estimulu horietako batzuek iraupen luzea dute, hots, 12 eta 24 ordu bitartean; beste batzuk aldiz laburrak dira, eta errepikakorrak izan daitezke.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Ikerketa-lan honen helburua CUMS depresioaren animalia-eredua garatzea da. Baliotasun handiko animalia-eredu hau abiarazteak farmako eta estrategia antidepressibo berrien azterketa ahalbideratuko du. Depresioaren garrantzi soziala eta intzidentzia nabarmenak dira, eta aipatu bezala, gorantza doaz. Hau dela eta, tratamenduen hobekuntza premia da. Animalia-eredu hau tresna baliotsua izan daiteke farmakologia basikoaren ikuspuntutik, farmako berrien *screening* prozesua aurrera eramateko.

Helburu horrekin, Euskal Herriko Unibertsitateko Farmakologiako Saileko ikerketa-taldeek eskuragarri dauzkagun baliabideak eta instalazioak erabiliko dira CUMS animalia-eredua sortzeko. Ikerketaren muina hiru fase nagusitan garatuko da:

- I. CUMS protokoloaren diseinua eta aplikazioa, C57BL/6J anduiko saguak erabiliz.
- II. Portaera frogak: animalien sintomatologia depresiboaren nahiz antsietatearen ebaluazioa.
- III. Disekzioa eta ehunen estrakzioa, azterketa anatomiko, biokimiko eta neurokimikoak burutzeko.

3. Ikerketaren muina

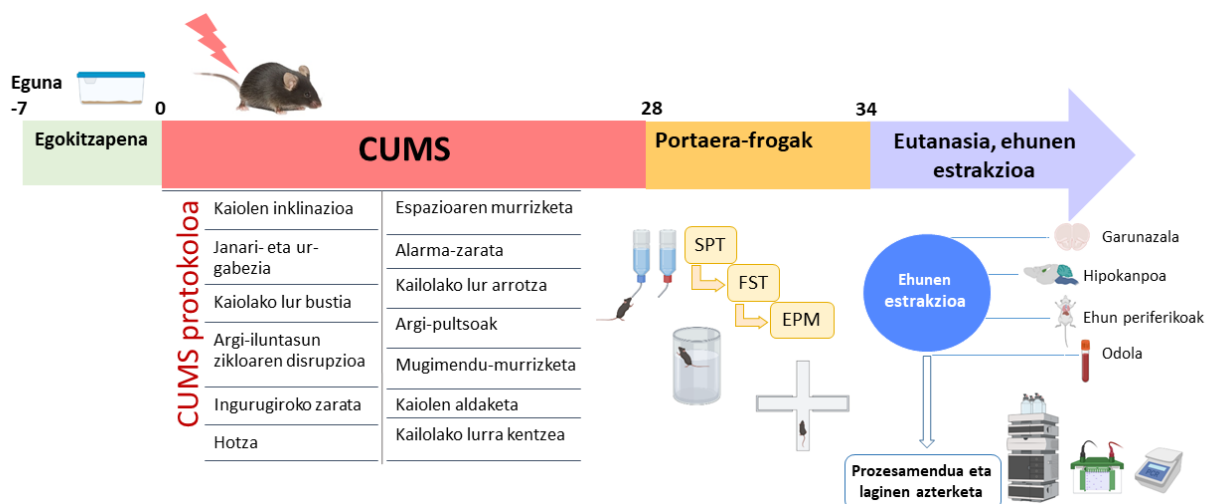
CUMS animalia-eredua ekoizteko erabiliko den protokoloaren diseinua 60 erreferentzia bibliografiko baino gehiago kontsultatu ondoren egin da. Ereduaren hastapenetatik hasita (Katz, 1982), azken lau hamarkadetan izan duen eboluzioa jarraitu da, protokoloen (Nollet et al., 2013) eta berrikuspenen bidez (Willner, 2005, 2017a, 2017b), eta egin diren meta-analisi berrienak hartu dira kontuan (Antoniuk et al., 2019).

Azken urteotan, ikerketa laborategien aldetik, CUMS prozedurak leuntzeko joera nabarmena izan da: aplikatzen diren estres-estimuluaren intentsitatea baxuagoa da egun, hasierako urteetakoan aldean. Fenomeno honek bi kausa nagusi ditu atzean. Alde batetik, aspektu etikoa (Willner, 2017a), izan ere, egun animaliekin egiten diren ikerketa-proiektu guztiak onartu behar ditu eskudun aginpideak; Animaliekin egiten den Esperimentaziorako Etika Batzordeak, Euskal Herriko Unibertsitatearen kasuan. Era berean, gizartearen pertzepzioak bilakaera handia izan du animalien ustiapenari dagokionean, eta animalien tratuarekiko tolerantzia atariak nabarmen egin du behera. Beste alde batetik, konstruktua baliotasun printzipioari jarraiki, estimulu estresagarri arin/moderatuek parekotasun handiagoa dute depresioaren egiazko kausekin. Antzina erabiltzen ziren estimulu estresagarrietako batzuk ur- edo janari-gabezia periodo luzeak (40 ordu), beroagatiko estresari esposizioa (40°C), bainua izotz-uretan ala shock-erako estimuluaren aplikazioa dira, baina egun halako prozedura agresiboak ekiditen dira (Willner, 2017a).

Ikerlan honetan 8 astetako C57BL/6J saguak erabili dira, eta talde esperimentala 48 sagukoa izan da. Aste beteko egokitzapen-aldiaren ostean, esperimentazioa hasi dugu, **1. irudian** laburbiltzen den eran. Animalia kopuru osoaren erdiari (24 sagu) aplikatu zaie CUMS protokoloa 4 astetan zehar; beste erdiak kontrol taldea osatu du, eta estabulazio-baldintza normaletan mantendu dira: 19-22°C-tako tenperatura, %50-60-ko hezetasuna, 12:12 ordutako argi-iluntasun zikloa, *ad libitum* jana eta ura. Euskal Herriko Unibertsitateko Animaliekin egiten den Esperimentaziorako Etika Batzordeak prozedura

guztiak onartu ditu. Hautatutako estres estimuluak ausazko ordenan banatu dira 4 astetako egutegi batean, eta haien arteko ausazko konbinazioak prestatu dira, egunean estres-estimulu bat baino gehiago jaso zezaten saguek. Behin 4 astetako CUMS prozedura beteta, animalia guztiak portaera frogetan ebaluatu dira: SP, FST eta EPM. Azkenik, animaliak sakrifikatu dira, ehunen estrakzioa egiteko. Eskuratutako garun-eremuak *in vitro* determinazioetan erabili dira: monoaminen erauzketarako ehunaren homogeneizazioa, eta bereizmen-handiko kromatografia likido (HPLC) bidezko azterketa. Bestalde, ehun periferikoen azterketa egin da (birrikak, guruin adrenalak), nahiz plasmako hainbat substantziaren kuantifikazioa (IL-6, kortikosterona), ELISA entseguen bidez.

1. irudia. Esperimentuaren denbora-diagrama: egokitzapen aldia, CUMS protokoloa, portaera-frogak, disezioa eta ehunen azterketa.

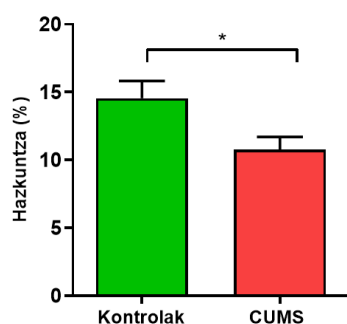


4. Ondorioak

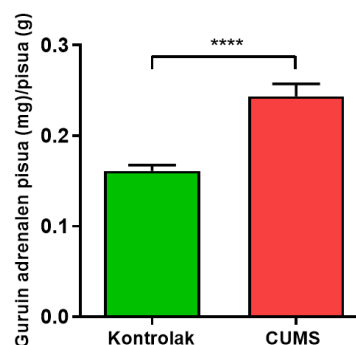
Esperimentu-multzo honetan emaitza positiboak nahiz negatiboak lortu ditugu. CUMS protokoloa jasan duten animaliek aldaketa nabariak izan dituzte maila mikroskopiko nahiz makroskopikoan. Pisu-irabaztea nabarmenki baxuagoa izan da estresatutako saguetan, kontrolekin alderatuta (**2. irudia, a**). Honez gain, guruin adrenalaren hipertrofia garatu dute (**2. irudia, b**). Portaera-frogetan, alabaina, emaitzak ez dira estatistikoki esanguratsuak, eta ez dute CUMS animalien sintoma prodepresiboen agerpen argirik adierazten.

2. irudia. CUMS protokoloak eragindako alterazio makroskopikoak. a) Gorputz-pisuaren areagotzea (%) CUMS protokoloaren 28. egunean, hasierako pisuarekiko. CUMS animalien hazkuntza txikiagoa izan da, era estatistikoki esanguratsuan, kontrolekin alderatuta (*Unpaired t test*, * $p < 0,05$). **b)** Guruin adrenalaren pisua gorputz-pisuarekiko normalizatuta (mg/g), CUMS egutegiaren ondoren. CUMS animalien guruin adrenalak kontrolenak baino handiagoak ziren, era estatistikoki esanguratsuan (*Unpaired t test*, **** $p < 0,0001$).

a) Pisuaren areagotzea (%) (1. vs 18. eguna)



b) Guruin adrenalak (mg)/pisua (g)



5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

CUMS depresioaren animalia-ereduak aldaketa garrantzitsuak izan ditu lehen aldiz garatu zenetik. Eboluzio honek prozeduren finketa ahalbidetu du, eta baliotasun-irizpideak zehaztasun handiagoz betetzea. Eredu hau ezinbestekotzat jotzen dute aditu batzuek depresioaren neurobiologiaren inguruan egin diren aurkikuntza anitz azaltzeko. Ez hori bakarrik, tratamendu antidepresiboaren aurrerapena ere baimendu du, farmakoek CUMS animaliek pairatzen dituzten alterazioak leheneratzeko gaitasuna erakusten dutelako. Garrantzi berezia du ereduak aspektu honetan, terapia antidepresiboan aurrerapen urriak egin direlako azken hamarkadetan. Gainera, ereduaren konstruktua-baliotasuna bikaina da, eta honek balio translazionala ematen dio.

Animalien ongizatearen ikuspegitik ere CUMS ereduak abantailak eskaintzen ditu, estrategia moderatua baita patologia psikiatriko baten sintomatologia karraskarietan eragiteko. Historian zehar erabili izan diren beste eredu batzuk baino askoz leunagoa da, eta animalien sufrimendua hein batean murrizteko aukera eman du.

Gure laborategian martxan ipinitako CUMS protokoloa lehen aurrera pausu bat izan da eredu honen aplikazioekin lan egiten hasteko. Prozeduren hobekuntzaren beharra ukazina da, portaera frogen emaitzak argitzeko, besteak beste. Estres egutegiarengan negatiboki eragin duten hainbat faktore identifikatu dira, eta hauek zuzentzeko azterketa bat egin da. Lortutako ondorioen arabera, protokoloaren errefinamendu-aldaketak abiaraziko dira datorren hilabeteetan.

Azkenik, estresaren eta depresioaren arteko erlazioa behin eta berriro erakutsi dute ikerketek. Estresak organismoan eragiten dituen erantzun fisiologikoak nahiz prozesu patologikoak sakonki aztertzeko premia du komunitate zientifikoak, gizartean geroz eta zabaldago dagoen fenomenoaren da eta. CUMS eta bestelako animalia ereduak prozesu horien aspektu ezberdinak ikertzeko aukera ematen dute, eta gizarte osoaren onurarako aurkikuntza bultzatuko dute.

6. Erreferentziak

American Psychiatric Association. (2013). Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-5). Editorial Médica Panamericana, Espainia.

Antoniuk, S., Bijata, M., Ponimaskin, E., & Wlodarczyk, J. (2019). Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 99, 101-116.

Carobrez, A. P., & Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(8), 1193-1205.

Castagné, V., Moser, P., Roux, S., & Porsolt, R. D. (2011). Rodent models of depression: Forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. *Current Protocols in Neuroscience*, 55(1), 8.10A.1-8.10A.14.

Iwata, M., Ota, K. T., & Duman, R. S. (2012). The inflammasome: Pathways linking psychological stress, depression, and systemic illnesses. *Brain, Behavior, and Immunity*, 31, 105-114.

Katz, R. J. (1982). Animal model of depression: Pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16(6), 965-968.

Malhi, G. S., & Mann, J. (2018). Depression. *The Lancet*, 392:2299-312.

Molero, P., Ramos-Quiroga, J. A., Martín-Santos, R. R., Calvo-Sánchez, E. E., Gutiérrez-Rojas, L. L., & Meana, J. J. (2018). Antidepressant efficacy and tolerability of ketamine and esketamine: A critical review. *CNS Drugs* 32, 411-420.

Monteiro, S., Roque, S., de Sá-Calçada, D., Sousa, N., Correia-Neves, M., & Cerqueira, J. J. (2015). An efficient chronic unpredictable stress protocol to induce stress-related responses in C57BL/6 mice. *Frontiers in Psychiatry*, 6, 6.

Muscat, R., & Willner, P. (1992). Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: A methodological analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16(4), 507-517.

Nedic Erjavec, G., Sagud, M., Nikolac Perkovic, M., Svob Strac, D., Konjevod, M., Tudor, L., et al. (2021). Depression: Biological markers and treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 105, 110139.

Nemeroff, C. B., & Vale, W. W. (2005). The neurobiology of depression: Inroads to treatment and new drug discovery. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 66 Suppl 7, 5-13.

Nollet, M., Guisquet, A. L., & Belzung, C. (2013). Models of depression: Unpredictable chronic mild stress in mice *Current Protocols in Pharmacology*, Chapter 5, Unit 5.65.

Troubat, R., Barone, P., Leman, S. S., Desmidt, T. T., Cressant, A., Atanasova, B., et al. (2020). Neuroinflammation and depression: A review. *European Journal of Neuroscience* 53(1), 151-171.

Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: Consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52(2), 90-110.

Willner, P. (2017a). The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiology of Stress*, 6(C), 78-93.

Willner, P. (2017b). Reliability of the chronic mild stress model of depression: A user survey. *Neurobiology of Stress*, 6(C), 68-77.

World Health Organization [Internet]. Geneva: World Health Organization, c2020. Depression. Fact sheet: 2020 Urt 30 [Kontsulta: 2021-02-10]; [3 or.]. Eskuragarri: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>.

7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa-proiektu hau Euskal Herriko Unibertsitateko Farmakologiako Sailean eraman da aurrera, Doktorego Tesi proiektu baten barnean. Euskal Herriko Unibertsitateko Ikertzaileak Prestatzeko Beka baten bidez finantzatu da (2019ko deialdia).