

## Efecto del jugo de zarzamora sobre los patrones conductuales de nado y el número de neuronas en la región cg1 de Ratas Wistar

*Effect of blackberry juice on swimming patterns and number of neurons in the cg1 region of Wistar Rats*

Katya Alexa Ramírez-Lagunas<sup>a</sup> | Isidro Vargas-Moreno<sup>b</sup> |  
Socorro Herrera-Meza<sup>c</sup> | Juan Francisco Rodríguez-Landa<sup>d</sup> |  
Abraham Puga-Olguín<sup>e</sup> | Rafael Fernández-Demeneghi<sup>f</sup>

Recibido: 27 de octubre de 2021.

Aceptado: 7 de abril de 2022.

---

<sup>a</sup> Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina, Xalapa, México. Contacto: [katya.rl30@gmail.com](mailto:katya.rl30@gmail.com) | ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8254-4719>

<sup>b</sup> Universidad Veracruzana, Instituto de Neuroetología, Xalapa, México. Contacto: [isvamo94@hotmail.com](mailto:isvamo94@hotmail.com) | ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6774-9444>

<sup>c</sup> Universidad Veracruzana, Instituto de Investigaciones Psicológicas, Xalapa, México. Contacto: [soherrera@uv.mx](mailto:soherrera@uv.mx) | ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0838-470X>

<sup>d</sup> Universidad Veracruzana, Instituto de Neuroetología, Xalapa, México. Contacto: [juarodriguez@uv.mx](mailto:juarodriguez@uv.mx) | ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5837-103X>

<sup>e</sup> Universidad Veracruzana, Centro de Ecoalfabetización y Diálogo de saberes, Xalapa, México. Contacto: [abra\\_puga@hotmail.com](mailto:abra_puga@hotmail.com) | ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5968-0210>

<sup>f</sup> Universidad Veracruzana, Facultad de Nutrición, Xalapa, México. Contacto: [raffernandez@uv.mx](mailto:raffernandez@uv.mx) | ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7540-6537> \*Autor para correspondencia.

---

**Resumen:** El estrés puede predisponer al desarrollo de trastornos psiquiátricos como la depresión. El consumo de frutos rojos ha sido asociado a un bajo riesgo padecer depresión, debido a su alto contenido de polifenoles y antocianinas. El presente estudio evaluó el efecto del jugo de zarzamora sobre la conducta tipo depresión y el número de neuronas en la región Cg1 de la corteza prefrontal de la rata. Se utilizaron 44 ratas macho Wistar divididas en 5 grupos: vehículo, zarzamora baja y alta, fluoxetina y diazepam. Los efectos se evaluaron en las pruebas de campo abierto y nado forzado. Para el análisis histológico se realizó la tinción de violeta de cresilo. El grupo tratado con la dosis alta de zarzamora produjo efectos tipo antidepresivo y un mayor número de neuronas en la región Cg1. Los resultados sugieren que el jugo de zarzamora pudiera prevenir el desarrollo de trastornos psiquiátricos asociados al estrés.

**Palabras clave:** Antocianinas, Cg1, desesperanza conductual, neuronas, zarzamora, Rata Wistar.

**Abstract:** *Stress can predispose to the development of psychiatric disorders such as depression. Berry consumption has been associated with a lower risk of developing depression, due to its high content of polyphenols and anthocyanins. This study evaluated the effect of blackberry juice on depression-like behavior and the number of neurons in the Cg1 region of the prefrontal cortex of rats. Forty-four male Wistar rats were divided into five groups: vehicle, low and high blackberry, fluoxetine and diazepam. The effects were evaluated in the open field and forced swimming tests. The histological analysis was performed using the stain cresyl violet. Groups treated with the high dose of blackberry showed antidepressant-like effects, as well as a greater number of neurons in the Cg1 region. Results suggest that blackberry juice could prevent psychiatric disorders associated with stress.*

**Keywords:** *Anthocyanins, Blackberry, Cg1, Depression-Like Behavior, Neurons, Wistar Rat.*

## Introducción

El estrés es una respuesta biológica ante estímulos externos o internos, los cuales impactan la homeostasis celular (Quick & Henderson, 2016). Esta respuesta ayuda al organismo a afrontar situaciones que desafían la supervivencia, promoviendo la adaptación (De Kloet et al., 2005; Joëls & Baram, 2009; Lupien et al., 2009). La frecuencia y la intensidad de los factores estresantes pueden producir efectos fisiológicos y psicológicos en el cuerpo (Quick & Henderson, 2016), los cuales se expresan a través de modificaciones conductuales, emocionales y cognitivas. Existe evidencia que sustenta la estrecha asociación entre el estrés y la depresión (Hammen, 2005), debido a que diversos estresores se han asociado a un mayor riesgo de desarrollar psicopatologías como la ansiedad y la depresión (Huremović, 2019). Aproximadamente, el 20-25% de personas que experimentan eventos estresantes de manera crónica, desarrollan depresión (Van Praag et al., 2004; Kendler et al., 1999; De Kloet et al., 2005; Hammen, 2005). Por lo que este desorden psiquiátrico se considera de mayor prevalencia a nivel mundial, afectando a cerca de 300 millones de personas (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2021).

El tratamiento farmacológico de esta patología se basa en el uso de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la enzima monoaminoxidasa y antidepresivos duales (Pérez-Esparza, 2017; Pérez-Esparza et al., 2020), entre otros. Desafortunadamente, algunos de ellos ejercen efectos secundarios no deseados, como

náuseas, dolor abdominal, mareos, agitación, insomnio y en algunas ocasiones, taquicardia y disfunción sexual (Souery, Papakostas y Trivedi, 2006; Ravindran y Stein, 2010). Por ello, diversas investigaciones se han enfocado en la búsqueda de nuevas sustancias con potencial efecto antidepresivo y alternativas naturales que sirvan como agentes preventivos o coadyuvantes de la farmacoterapia antidepresiva (Rynn et al., 2011; Rapp et al., 2013; Fernández-Demeneghi et al., 2019).

Recientemente destaca la actividad farmacológica de los fitonutrientes presentes en los frutos rojos, entre los más comúnmente consumidos, se encuentran mora azul, arándano, frambuesa, fresa y zarzamora, debido a su alto contenido de polifenoles y antocianinas (Golovinskaia & Wang, 2021). Las antocianinas son pigmentos naturales responsables de la coloración característica de los frutos rojos, las cuales ejercen efectos de tipo antioxidante, antiinflamatorio, antimicrobiano, y que también desempeñan un papel en la prevención de la diabetes, el cáncer, así como enfermedades cardiometabólicas (Peña-Sanhueza et al., 2017).

Diversos estudios han sugerido que una alta ingesta de frutos rojos se asocia con menor riesgo de desarrollar depresión (Chang et al., 2016; Khalid et al., 2017), debido a que activan diversos sistemas de neurotransmisión a nivel cerebral; por lo que se considera que sus compuestos bioactivos podrían aportar efectos benéficos en la salud mental (Dias et al., 2012; Williams et al., 2016; Khalid et al., 2017). En un estudio anterior, se reportó el efecto tipo ansiolítico del jugo de zarzamora (*Rubus fruticosus L.*) en el modelo de laberinto de brazos elevados (Fernández-Demeneghi et al., 2019), pero queda por explorar sus efectos sobre el estrés generado en modelos experimentales de depresión. La corteza prefrontal es parte fundamental del sistema emocional (Awasthi et al., 2020). Diversos estudios han encontrado alteraciones en la corteza prefrontal, específicamente la corteza cingulada anterior (Cg1) en modelos de desesperanza conductual (Li et al., 2015, Landgraf et al., 2016).

Así, el presente estudio evaluó la respuesta conductual al estrés en la prueba de nado forzado (inmovilidad, escalamiento y buceo), la actividad motora y el número de neuronas en la región Cg1 de la corteza prefrontal en ratas macho Wistar. Bajo la perspectiva de que el jugo de zarzamora, como alimento funcional puede colaborar en la prevención de los síntomas del estrés crónico y, por lo tanto, del desarrollo de depresión.

## 1. Materiales y métodos

### 1.1. Ética

Los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con las recomendaciones éticas nacionales e internacionales, basadas en las Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NOM-062-ZOO-1999 y la *Guide For The Care and Use of Laboratory Animals of Institute of Laboratory Animal Resources* (National Research Council [NRC], 2011). Se realizaron todos los esfuerzos para minimizar la incomodidad y las molestias innecesarias de los animales durante el estudio.

## 1.2. Animales de experimentación

Se utilizaron 44 ratas macho Wistar, con un peso inicial de entre 200-250 g (2 meses de edad). Las ratas fueron alojadas por pares en jaulas de acrílico, con acceso *ad libitum* al agua y a una dieta estándar en el bioterio del Instituto de Investigaciones Psicológicas de la Universidad Veracruzana. Las ratas fueron pesadas semanalmente para ajustar la dosis del tratamiento. Las dosis del jugo se ajustaron de acuerdo con los antecedentes inmediatos (Fernández-Demeneghi et al., 2019). Los sujetos se mantuvieron bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12h/12h (la luz se encendía a las 7:00AM) a  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ .

## 1.3. Grupos experimentales

Las ratas fueron divididas en 5 grupos: un grupo vehículo (Veh n=9), que recibió agua esterilizada (Laboratorio PiSA, Ciudad de México, México), 8.7 mL/kg; un grupo zarzamora dosis baja (ZB, n=9), que recibió 5.7 mg ant/ 26.09 mg polifenoles /kg; grupo zarzamora dosis alta (ZA, n=7), que recibió 10.4 mg ant/37.45 mg polifenoles/kg; grupo fluoxetina (FLX n=10, Prozac, Eli-Lilly Compañía de México S.A. de C.V., Ciudad de México, México, que recibió 1 mg/kg; y finalmente un grupo diazepam (DZP n=9), Relazepam, Laboratorios PiSA, Guadalajara, Jalisco, México, tratado con una dosis de 2 mg/kg. Estos dos últimos grupos fueron considerados como fármacos de referencia antidepresiva y ansiolítica, respectivamente. La administración de los tratamientos se realizó durante 21 días, por vía orogástrica, exceptuando el diazepam, el cual fue administrado intraperitonealmente. Para el análisis de cuantificación neuronal se añadió un grupo vehículo sin estrés (VEH S/E n=3), cuyos sujetos fueron expuestos a las mismas condiciones experimentales exceptuando su evaluación en las pruebas conductuales.

## 1.4. Pruebas conductuales

### 1.4.1. Campo Abierto

Para descartar o identificar efectos en la motricidad de las ratas, atribuibles a los tratamientos, que pudieran influenciar la conducta de los sujetos en la prueba de nado forzado, se utilizó la prueba de campo abierto. La caja mide 30 x 44 x 33 cm y está hecha de vidrio con las paredes forradas de papel película azul, con el piso delineado en 12 cuadros de 11 x 11 cm. La prueba de campo abierto tuvo una duración de 5 min. Únicamente se consideró la variable de cuadros cruzados, que corresponde a las veces que una rata cruza de un cuadro a otro con al menos tres cuartas partes de su cuerpo (Fernández-Demeneghi et al., 2017). Al término de cada sesión la caja fue limpiada con una solución de alcohol al 15% (Gutiérrez-García et al., 2007). Todas las sesiones fueron filmadas con una videocámara (Sony, DCR-SR85, 2000x optical zoom), para el posterior análisis de las conductas.

### 1.4.2. Nado forzado

La prueba consistió en introducir a las ratas de manera individual en un estanque rectangular de vidrio con dimensiones de 30x50 cm de base, por 60 cm de altura. Fue llenado con agua a una altura de 30 cm y temperatura de  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  y; la altura que no les permite tocar el fondo con sus extremidades inferiores donde, además, la posibilidad de escapar es inexistente. Se realizó la

preprueba (15 min, pero sólo se consideraron los primeros 5 min) al término de los 21 días de tratamiento y 24 h después se realizó la prueba (5 min). Las variables evaluadas fueron a) inmovilidad, que es la suma de los periodos en los cuales la rata permanece realizando mínimos movimientos que le permiten mantenerse a flote, pero sin desplazamientos. b) escalamiento, considerado como el conjunto de movimientos vigorosos de las patas delanteras de los roedores dirigidas hacia arriba. c) buceo, incluye el comportamiento en donde las ratas sumergen cabeza y cuerpo completo bajo el agua, de todas las variables fueron consideradas latencia, frecuencia y tiempo empleado de estas conductas. Todas las sesiones fueron filmadas con una cámara Sony (DCR-SR85, 2000x optical zoom) para posteriormente cuantificar las variables de nuestro interés por dos observadores independientes mediante el programa UVEHAVIOR versión 1.0.0 elaborado para registros conductuales (UVEHAVIOR, 2020), hasta llegar a un porcentaje de concordancia de al menos 95%.

## 1.5. Análisis histológico

### 1.5.1. Perfusión

Al terminar las pruebas conductuales, se seleccionaron aleatoriamente 3 ratas de cada grupo experimental y se añadió el grupo vehículo sin estrés (n=3), las cuales recibieron una sobredosis de anestesia con pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) y fueron perfundidas por vía intracardiaca con 200 mL de solución salina (0.9%), seguido de 200 mL de paraformaldehído (4%), diluida en buffer de fosfatos 0.1 M con un pH de 7.3 (BF). Los cerebros fueron extraídos de la cavidad craneal y fueron conservados en paraformaldehído (24 h), después se sumergieron en soluciones de sacarosa al 10%, 20% y 30% respectivamente con la intención de crioprotgerlos, cada cambio de solución de sacarosa se realizó hasta que los cerebros tocaron el fondo del recipiente (24 h aproximadamente). Los cerebros fueron deshidratados en soluciones de etanol al 70, 80, 96 y 100%, posteriormente se aclararon con xileno y fueron embebidos en parafina. Posteriormente, cada uno de los cerebros se seccionó de forma coronal con un grosor de 50 µm en microtomo, al nivel de la corteza prefrontal contempladas entre las coordenadas interaural 13.20-12.24 mm y Bregma 4.20-3.24 mm (Paxinos, 2014).

### 1.5.2. Tinción y preparación de los cortes cerebrales

Los cortes fueron teñidos con la técnica de violeta de cresilo y secados a temperatura ambiente (Zhu et al., 2015). Posteriormente, los cortes fueron colocados en portaobjetos para el análisis y cuantificación neuronal por microscopía de luz.

### 1.5.3. Cuantificación de neuronas

La región analizada para la cuantificación neuronal fue la Cg1 de la corteza prefrontal, ubicada entre las coordenadas 4.20 mm 3.24 mm respecto a Bregma (Paxinos, 2014). El conteo neuronal se realizó con el programa ImageJ (v.1.49n, National Institutes of Health, EE.UU). Una célula neuronal fue considerada sin daño, cuando bajo la luz del microscopio se identificaron células morfológicamente normales teñidas con violeta de cresilo (Rivadeneira-Domínguez et al., 2014; Yamamoto et al., 2018; Snehunsi et al., 2019).

## 1.6. Análisis estadístico

Los datos de las pruebas conductuales fueron analizados mediante ANOVA de dos vías para muestras repetidas, considerando dos factores: el primero, como factor independiente nombrado grupo (tratamientos administrados citados en la metodología), y el segundo, como factor dependiente nombrado prueba, tomando en cuenta la exposición en el tiempo (preprueba y prueba). Posteriormente y en dado caso de revelar diferencias significativas, se utilizó la prueba *post hoc* Student-Newman-Keuls. En caso de incumplimiento de algunos de los supuestos del ANOVA (normalidad y homogeneidad), se procedió a dividir los datos el factor prueba y se analizó por medio de ANOVA de una vía o en su defecto por la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, tomando como único factor los tratamientos. Para los datos de la cuantificación neuronal, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, y como prueba *post hoc* prueba de rangos. Los datos se presentan con la media  $\pm$  error estándar, y en caso de ser no paramétrica con la mediana. Todos los datos fueron sometidos a un valor de  $p < 0.05$ , para considerarse estadísticamente significativos. Los resultados fueron analizados utilizando el paquete estadístico *SigmaPlot versión 12.0* y *SPSS versión 25* (prueba de rangos alineados). Las gráficas se realizaron en el programa GraphPad Prism *versión 8.0.1*.

## 2. Resultados

### Pruebas conductuales

#### 2.1. Nado forzado

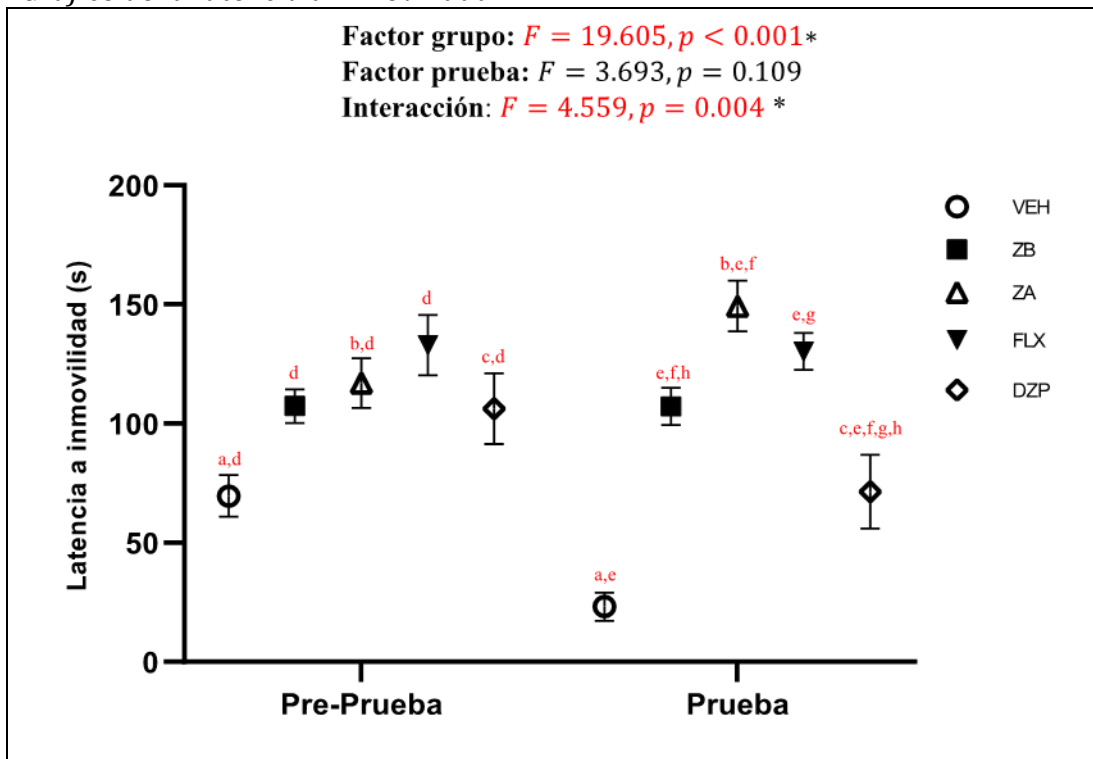
##### 2.1.1. Latencia e inmovilidad

La latencia a la inmovilidad presentó diferencias significativas en el factor grupo (**Figura 1**). La prueba *post hoc* reveló que los grupos administrados con la dosis baja ( $107.30 \pm 7.99$ ,  $p < 0.001$ ) y alta de zarzamora ( $133.16 \pm 9.06$ ,  $p < 0.001$ ), así como, la fluoxetina ( $131.61 \pm 7.58$ ,  $p < 0.001$ ) y el diazepam ( $88.83 \pm 7.99$ ,  $p < 0.001$ ) presentaron un mayor tiempo en la latencia a inmovilidad respecto al grupo vehículo ( $46.39 \pm 7.99$ ).

Por otro lado, la interacción de factores mostró diferencias significativas (**Figura 1**), donde la prueba *post hoc* reveló que, durante ambas sesiones, todos los grupos experimentales fueron diferentes respecto al grupo vehículo con mayores tiempos de latencia a inmovilidad ( $p < 0.05$ ). Así mismo, el grupo vehículo mostró diferencias entre las sesiones ( $p < 0.05$ ). Por otro lado, el grupo diazepam evidenció diferencias entre las sesiones ( $p < 0.05$ ), y a su vez en la sesión de prueba fue diferente contra los grupos administrados con fluoxetina y ambas dosis de zarzamora ( $p < 0.05$ ) (**Tabla 1**).

Por último, la dosis alta de zarzamora es diferente entre la preprueba y prueba ( $p < 0.05$ ); de igual forma durante la prueba, esta misma dosis fue diferente respecto a la dosis baja de zarzamora ( $p < 0.05$ ) (**Tabla 1**).

**Figura 1**  
Gráfico de la latencia a inmovilidad



Nota: (VEH: vehículo, ZB: zarzamora baja, ZA: zarzamora alta, FLX: fluoxetina, DZP: diazepam; se reporta la media ± SE, diferencias significativas entre tratamientos con letras iguales)  
Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 1**  
Medias de cada factor e interacción en la variable latencia de inmovilidad

	Pre-prueba	Prueba	Grupo
VEH	69.69 ± 10.56 <sup>a,d</sup>	23.19 ± 10.56 <sup>a,e</sup>	46.39 ± 7.99
ZB	107.33 ± 10.56 <sup>d</sup>	107.27 ± 10.56 <sup>e,f,h</sup>	107.30 ± 7.99*
ZA	117.01 ± 11.97 <sup>b,d</sup>	149.31 ± 11.97 <sup>b,e,f</sup>	133.16 ± 9.06*
FLX	132.90 ± 10.02 <sup>d</sup>	130.33 ± 10.02 <sup>e,g</sup>	131.61 ± 7.58* †
DZP	106.25 ± 10.56 <sup>c,d</sup>	71.42 ± 10.56 <sup>c,e,f,g,h</sup>	88.83 ± 7.99* †
Prueba	106.62 ± 4.81	96.30 ± 4.81	

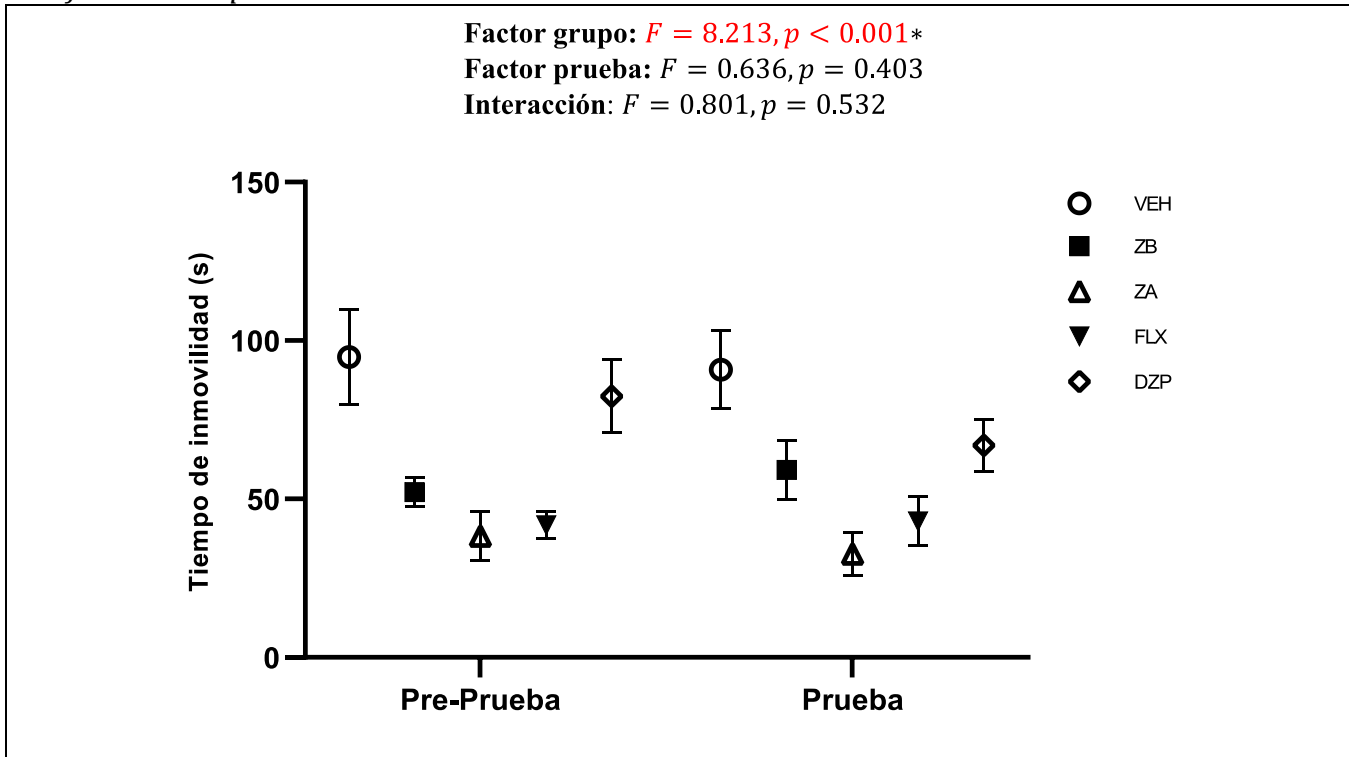
Nota: (VEH: vehículo, ZB: zarzamora baja, ZA: zarzamora alta, FLX: fluoxetina, DZP: diazepam; se reporta la media ± SE, diferencias significativas entre tratamientos con letras iguales, \*: p<0.05 vs VEH; †: p<0.05 vs ZA).  
Fuente: Elaboración propia.

2.1.2. *Tiempo de inmovilidad*

El tiempo de inmovilidad mostró diferencias significativas en el factor grupo (**Figura 2**), la prueba *post hoc* mostró una disminución en el tiempo total de inmovilidad en los grupos administrados con dosis baja ( $p < 0.05$ ) y alta de zarzamora ( $p < 0.001$ ), así como el de fluoxetina ( $p < 0.001$ ) respecto al grupo vehículo. A su vez, las dosis de zarzamora alta ( $p < 0.05$ ) y fluoxetina ( $p < 0.05$ ) mostraron diferencias contrastadas comparado con el grupo diazepam (**Tabla 2**).

**Figura 2**

*Gráfico del tiempo de inmovilidad*



Nota: (VEH: vehículo, ZB: zarzamora baja, ZA: zarzamora alta, FLX: fluoxetina, DZP: diazepam; se reporta la media  $\pm$  SE, diferencias en el factor cuando \*:  $p < 0.05$ ).

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 2**

*Medias de cada factor e interacción en la variable tiempo de inmovilidad*

	Pre-prueba	Prueba	Grupo
VEH	69.69 $\pm$ 10.56 <sup>a,d</sup>	23.19 $\pm$ 10.56 <sup>a,e</sup>	46.39 $\pm$ 7.99
ZB	107.33 $\pm$ 10.56 <sup>d</sup>	107.27 $\pm$ 10.56 <sup>e,f,h</sup>	107.30 $\pm$ 7.99*
ZA	117.01 $\pm$ 11.97 <sup>b,d</sup>	149.31 $\pm$ 11.97 <sup>b,e,f</sup>	133.16 $\pm$ 9.06*
FLX	132.90 $\pm$ 10.02 <sup>d</sup>	130.33 $\pm$ 10.02 <sup>e,g</sup>	131.61 $\pm$ 7.58* †
DZP	106.25 $\pm$ 10.56 <sup>c,d</sup>	71.42 $\pm$ 10.56 <sup>c,e,f,g,h</sup>	88.83 $\pm$ 7.99* †
Prueba	106.62 $\pm$ 4.81	96.30 $\pm$ 4.81	

Nota: (VEH: vehículo, ZB: zarzamora baja, ZA: zarzamora alta, FLX: fluoxetina, DZP: diazepam; \*:  $p < 0.05$  vs VEH; †:  $p < 0.05$  vs DZP).

Fuente: Elaboración propia.



### 2.1.3. Conducta de buceo

Latencia al buceo no mostró diferencias significativas en ninguno de los factores, en el grupo ( $F_{(4,78)}=1.216, p=0.311$ ), en la prueba ( $F_{(1,78)}=2.885, p=0.093$ ) y en la interacción ( $F_{(4,78)}=0.336, p=0.832$ ).

La frecuencia de buceos únicamente presentó diferencias significativas en el factor prueba, donde la prueba post hoc reveló una mayor frecuencia de conductas de buceo durante la preprueba (3.109, IC: 2.16 - 4.05) respecto a la prueba (0.874, IC: -0.73 - 1.82).

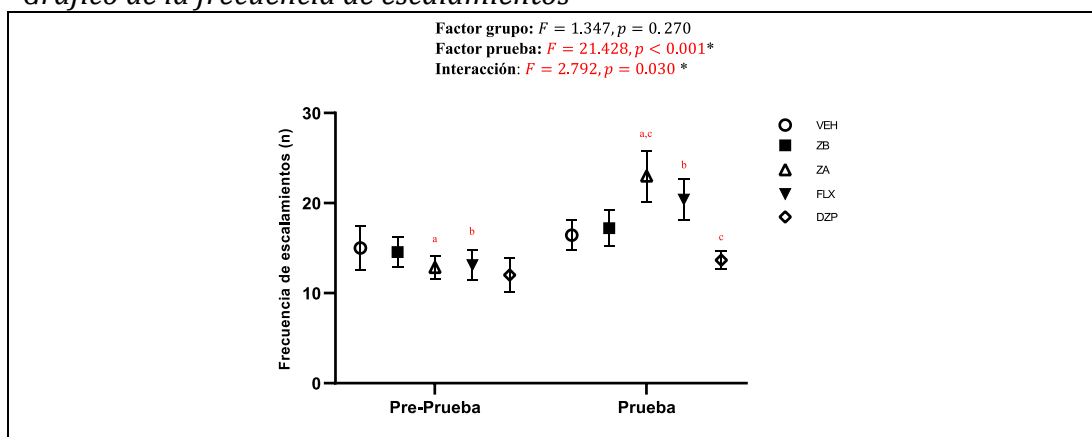
En cuanto al tiempo empleado en buceo, únicamente se evidenciaron diferencias en el factor: prueba, el cual mostró una disminución en el tiempo de la expresión de dicha conducta durante la sesión de prueba ( $1.67 \pm 1.11$ ), respecto a la sesión preprueba ( $6.87 \pm 1.11$ ) ( $p < 0.001$ ).

### 2.1.4. Conducta de escalamiento

La latencia al escalamiento no mostró diferencias significativas a ningún nivel de los factores, ya sea en el grupo ( $F_{(4,78)}=0.837, p=0.510$ ), en la prueba ( $F_{(1,78)}=0.608, p=0.440$ ) y en la interacción ( $F_{(4,78)}=1.038, p=0.400$ ).

En cuanto a la frecuencia de escalamientos se observaron diferencias significativas en el factor prueba y en la interacción (**Figura 3**). La prueba *post hoc* reveló que, existe una mayor frecuencia de escalamientos durante la prueba respecto a la preprueba ( $p < 0.05$ ). La interacción de factores fue estadísticamente significativa, donde la prueba post hoc mostró que el grupo fluoxetina fue diferente entre las sesiones, con un incremento en el número de escalamientos durante la prueba al compararse con la preprueba ( $p < 0.05$ ). Así mismo, se encontró una mayor frecuencia de escalamientos en la dosis alta de zarzamora durante la prueba comparado contra la sesión de preprueba ( $p < 0.001$ ) y contra la dosis de diazepam durante la prueba ( $p < 0.05$ ) (**Tabla 3**).

**Figura 3**  
Gráfico de la frecuencia de escalamientos



Nota: (VEH: vehículo, ZB: zarzamora baja, ZA: zarzamora alta, FLX: fluoxetina, DZP: diazepam; se reporta la media  $\pm$  SE, diferencias significativas entre tratamientos con letras iguales, diferencias en el factor cuando \*:  $p < 0.05$ ). Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 3**

*Medias de cada factor e interacción en la variable frecuencia de escalamiento*

	Pre-prueba	Prueba	Grupo
VEH	15 ± 1.92	16.44 ± 1.92	15.72 ± 1.57
ZB	14.55 ± 1.92	17.22 ± 1.92	15.88 ± 1.57
ZA	12.85 ± 2.17 <sup>a</sup>	23 ± 2.17 <sup>a,c</sup>	17.92 ± 1.78
FLX	13.10 ± 1.82 <sup>b</sup>	20.40 ± 1.82 <sup>b</sup>	16.75 ± 1.49
DZP	12 ± 1.92	13.67 ± 1.92 <sup>c</sup>	12.83 ± 1.57
Prueba	13.50 ± 0.87 <sup>*</sup>	18.14 ± 0.87 <sup>*</sup>	

Nota: (VEH: vehículo, ZB: zarzamora baja, ZA: zarzamora alta, FLX: fluoxetina, DZP: diazepam; se reporta la media ± SE, diferencias significativas entre tratamientos con letras iguales). Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, el tiempo empleado en escalamientos mostró diferencias en el factor prueba ( $F_{(1,78)}=115.79, p<0.001$ ). La prueba *post hoc*, identificó un aumento de esta variable en la prueba ( $52.30\pm 2.37$ ) comparado con la preprueba ( $20.01\pm 2.37$ ) ( $p<0.001$ ).

## 2.2. Campo abierto

### 2.2.1. Número de cuadros cruzados

El número de cuadros cruzados presentó diferencias en la interacción de los factores, revelando con la prueba *post hoc* una disminución en el grupo diazepam durante la prueba ( $47.77\pm 5.26$ ) comparado con la preprueba ( $63.33\pm 5.26$ ) ( $p<0.05$ ).

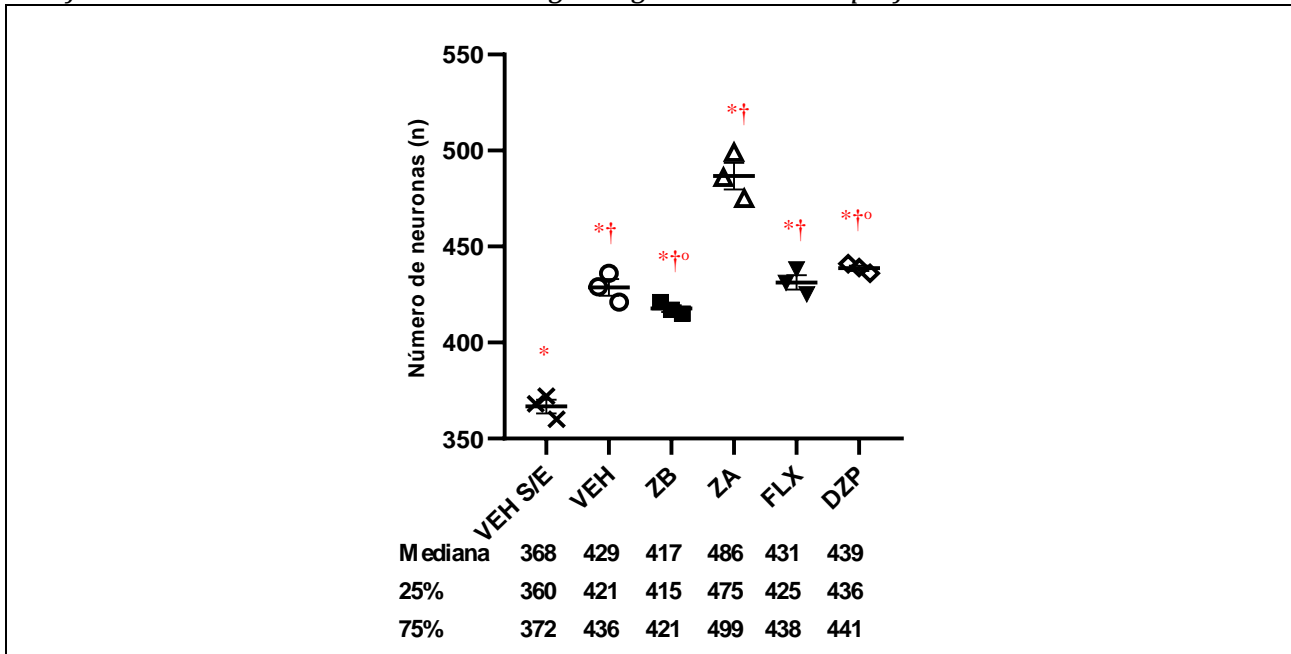
## 2.3. Cuantificación neuronal

### 2.3.1. Número neuronas en la región Cg1

Se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de neuronas evaluadas en la región Cg1 de la corteza prefrontal (**Figura 4**). La prueba *post hoc* identificó un aumento del número de neuronas por parte de todos los grupos con respecto al grupo vehículo sin estrés ( $p<0.05$ ) (**Figura 5**). Además, el grupo administrado con la dosis alta de zarzamora presentó una mediana mayor que las dosis de zarzamora baja, de fluoxetina, diazepam y el vehículo ( $p<0.05$ ). Por último, la dosis de diazepam presenta mayor número de neuronas al compararse con la dosis de zarzamora baja ( $p<0.05$ ).

**Figura 4**

Gráfico del número de neuronas en la región Cg1 de la corteza prefrontal

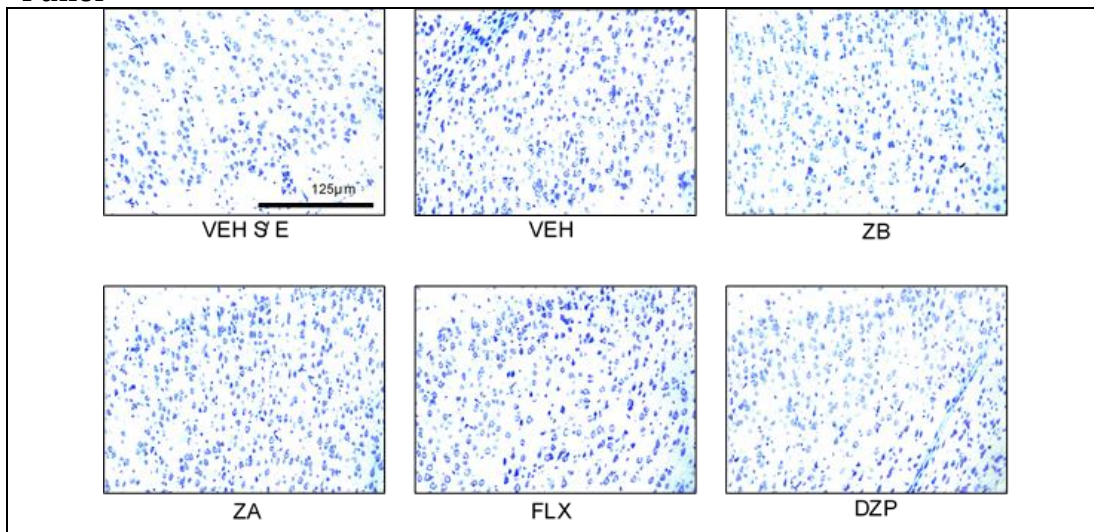


Nota: (VEH S/E: vehículo sin estrés, VEH: vehículo, ZB: zarzamora baja, ZA: zarzamora alta, FLX: fluoxetina, DZP: diazepam; se reporta la mediana y la distribución de datos al 25 y 75%, diferencias significativas: \*,  $p < 0.05$  vs VEH S/E; †,  $p < 0.05$  vs ZA; †o,  $p < 0.05$  vs DZP). Fuente: Elaboración propia.

**Figura 5**

Número de neuronas del área Cg1 de la corteza prefrontal.

Panel



Nota: En las micrografías de las ratas expuestas a estrés se muestra cualitativamente un mayor número a comparación con las ratas vehículo sin estrés. Fuente: Elaboración propia.

### 3. Discusión

El presente estudio evaluó el efecto del pretratamiento con el jugo de zarzamora sobre la desesperanza y los patrones conductuales en la prueba de nado forzado, así como la motricidad y el número de neuronas en la región Cg1 de la corteza prefrontal de ratas macho de la cepa Wistar. Los grupos tratados con jugo de zarzamora aumentaron la latencia a la primera inmovilidad respecto al grupo control y de forma semejante al efecto producido por fluoxetina y diazepam, lo cual sugiere un incremento del primer esfuerzo para escapar de la situación estresante (Contreras et al., 1998; Espejo y Miñano, 1999). Estos datos son consistentes con lo reportado por Contreras et al., (2001), donde la dosis de 1mg de Fluoxetina por 21 días, incrementó la latencia de inmovilidad asociada a un aumento de la motivación, que fue relacionado con el aumento de la actividad neuronal del núcleo septal lateral, una estructura relacionada con la fisiopatología de la depresión (Contreras et al., 2001).

El tiempo total de inmovilidad, es una conducta considerada como un indicador de carencia de motivación para resolver un problema, además es considerada como la principal variable asociada a la desesperanza conductual. En la presente investigación se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, evidenciando una disminución en los grupos administrados con zarzamora y fluoxetina, los cuales previnieron el establecimiento de la desesperanza conductual en la preprueba. Este hallazgo, puede ser interpretado como un aumento de la motivación para escapar del estresor que representa la prueba de nado forzado (Porsolt et al., 1977).

Nuestros datos son similares a lo reportado por Valcheva-Kuzmanova y colaboradores (2013), con jugo de *Aronia melanocarpa* en la prueba de nado forzado en ratas hembra, en un modelo de depresión inducido por alcohol, en este estudio los polifenoles presentes en el jugo disminuyeron el tiempo total de inmovilidad, revelando un efecto de tipo antidepresivo, además ejerció un efecto preventivo contra el daño hepático y el estrés oxidativo. Así mismo, dichos datos concuerdan con lo reportado en ratas macho con el modelo tradicional de Porsolt después de 21 y 30 días de administración de jugo de la misma fruta (Valcheva-Kuzmanova, 2013). Por otro lado, en un estudio similar, Tomić y colaboradores (2016), evaluaron los efectos de la administración de jugo de *Aronia Melanocarpa ad libitum* sobre la ansiedad y la depresión en ratas, reportando una reducción del tiempo total de inmovilidad en el grupo tratado con jugo al compararse con el grupo control, siendo incluso menor que el grupo tratado con imipramina, concluyendo que el consumo de este jugo podría ejercer efectos similares al producido por fármacos antidepresivos. Los autores concluyeron que el consumo de este jugo podría provocar efectos similares al del antidepresivo imipramina (Tomić et al., 2016). De igual manera, nuestros datos son semejantes con lo recientemente reportado por Imran y colaboradores (2021), con la fruta *Grewia asiatica L.*, una baya (berry) popular de Pakistán rica en polifenoles y antocianinas, cuya administración en ratas Sprague-Dawley ejerció un efecto de tipo ansiolítico, así como un efecto de tipo antidepresivo en la prueba de nado forzado, además, los sujetos tratados previnieron los efectos amnésicos y mostraron un efecto neuroprotector asociados a su capacidad antioxidante o debido a su participación en la regulación de los sistemas GABAérgico, serotoninérgico y colinérgico del cerebro.

Por otro lado, la prueba de nado forzado también puede revelar diferencias asociadas a los patrones conductuales (Detke et al., 1997). Por ello, el presente estudio consideró la evaluación de los

comportamientos: escalamiento y buceo, en ambas sesiones de exposición. La conducta de buceo únicamente mostró diferencias en cuanto al factor prueba, en promedio todos los grupos disminuyeron la frecuencia y el tiempo empleado en la misma, durante la segunda sesión. Por otro lado, la frecuencia de escalamientos reveló diferencias tanto en el factor prueba como en la interacción; se observó un incremento de esta conducta en la segunda sesión, principalmente en los grupos administrados con zarzamora alta y fluoxetina respecto a su resultado en la preprueba. Adicionalmente, el grupo administrado con fluoxetina mostró incremento de los escalamientos comparado contra el grupo administrado con diazepam. Sin embargo, el tiempo empleado en el escalamiento sólo mostró diferencias en el factor prueba, todos los grupos incrementaron el tiempo empleado en dicha conducta.

De acuerdo con Detke et al. 1997, los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) como la fluoxetina, sertralina, paroxetina disminuyen la inmovilidad e incrementan la conducta de nado (Detke y Lucki, 1995). Contrario a esto, los inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (ISRN) como desipramina, disminuyen la inmovilidad e incrementan la conducta de escalamiento. Estas modificaciones conductuales se pueden observar al administrar fármacos antidepresivos, por ejemplo, una reducción en el tiempo de inmovilidad de la rata, relacionándolo con un mayor afrontamiento al estado de desesperanza conductual (De Kloet y Molendiik, 2016). Por ello, el nado forzado permite medir de forma fiable, los efectos de los ISRS y otros fármacos (Cryan et al., 2005), así como medir la frecuencia de diferentes tipos de comportamientos activos como el nado, que es sensible a compuestos serotoninérgicos como los ISRS y agonistas del receptor 5-HT, como en el estudio de Tomić et al. (2016), al estimular la neurotransmisión de serotonina, aumentó el periodo de natación activa (Tomić et al., 2016), mientras que el aumento de la neurotransmisión de noradrenalina, se relacionó con el escalamiento; por lo que, el escalamiento es sensible a los antidepresivos tricíclicos y fármacos con efectos selectivos en la transmisión de catecolaminas (Detke & Lucki, 1995; Cryan & Lucki, 2000; Cryan et al., 2005; Hemby et al., 1997), este comportamiento junto con el buceo fueron clasificados como comportamientos de escape (Hall et al., 2010). Por otro lado, Jaffar-Medina et al. (2020) no observaron cambios la conducta de escalamiento, sin embargo, su estudio evaluó la influencia del ciclo estral y las estaciones del año, en la prueba de nado forzado en ratas hembra Wistar (Jaffar-Medina et al., 2020). Nuestros datos no revelaron cambios importantes en los patrones conductuales, salvo la modificación del tipo de nado entre la primera y la segunda sesión, donde se observa que, independientemente de los tratamientos, las ratas incrementan el escalamiento y disminuyen el buceo, aparentemente como mecanismo conductual de adaptación a la prueba.

Con el objetivo de descartar alteraciones sobre la motricidad de los sujetos, se analizó el número de cuadros cruzados en la prueba de campo abierto. El diazepam fue el único tratamiento que redujo el número de cuadros cruzados durante la prueba. En esta prueba se espera que ningún tratamiento modifique la actividad locomotora, sin embargo, hay estudios donde se ha observado una disminución de dicha actividad al exponer a los sujetos repetidamente a la prueba de campo abierto (Rivadeneira-Domínguez et al., 2017).

La región Cg1 es la corteza cingulada anterior, perteneciente a la corteza prefrontal, esta forma parte del sistema emocional, claramente involucrado en la respuesta conductual al estrés (O'Mahony et al., 2010), y es considerada como una interfaz entre la cognición y las emociones

(Vogt, 2016). Algunos estudios utilizando modelos de desesperanza conductual han mostrado alteraciones en la corteza cingulada anterior (Cg1), caracterizados por modificaciones en la plasticidad sináptica (Li et al., 2015; Landgraf et al., 2016). En la presente investigación pudimos observar un aumento del número de neuronas en todos los grupos, en comparación al grupo vehículo sin estrés, el cual no fue sometido a las pruebas conductuales. Además, el grupo zarzamora alta reveló un incremento en el número de neuronas respecto a los grupos zarzamora baja, fluoxetina y diazepam. El hecho de que, el grupo vehículo sin estrés presentara un menor número de neuronas comparado con los grupos restantes, probablemente se debió a que los demás grupos fueron forzados a nadar y con ello se activó esta región promoviendo cambios en la plasticidad neuronal.

De acuerdo con Días et al. (2012) el estrés, la ansiedad y la depresión disminuyen la neurogénesis en el hipocampo (Martirosyan y Singh, 2015), contrario al uso de algunos antidepresivos y alimentos funcionales, como los frutos rojos, que han demostrado favorecer la neurogénesis hipocámpal (Casadesus et al., 2004; Lino de Oliveira et al., 2020). Lo cual pudiera haber favorecido la migración neuronal hacia la corteza prefrontal, por lo que se observó un incremento de neuronas en el grupo tratado con zarzamora y fluoxetina, los cuales tuvieron una mejor respuesta al afrontamiento del estrés, previniendo el establecimiento de la desesperanza conductual.

Finalmente, es posible que estos resultados se deban a la presencia y al efecto antioxidante ya conocido de los polifenoles y antocianinas presentes en el jugo de zarzamora. El efecto de antocianinas en la respuesta conductual al estrés y la depresión puede ser atribuido al aumento del contenido de neurotransmisores monoamínicos al inhibir la enzima monoaminoxidasa y favorecer la neurogénesis en el hipocampo (Fang et al., 2020).

Una de las limitantes de la presente investigación es que no se exploró el mecanismo de acción de los efectos aquí encontrados. Tampoco se utilizó un marcador de actividad neuronal. Será importante dilucidar los compuestos del jugo de zarzamora que producen las modificaciones en el comportamiento y sobre las neuronas corticales observadas en el presente trabajo.

## 4. Conclusión

Bajo estas condiciones, el jugo de zarzamora ejerció un efecto protector contra los cambios conductuales inducidos por el estrés en la prueba de nado forzado, de forma similar a la fluoxetina, evitando el establecimiento de la desesperanza conductual, probablemente por el contenido de polifenoles contenidos en el jugo de zarzamora. Lo anterior, sustenta un potencial efecto terapéutico preventivo contra los trastornos asociados al estrés.

## Referencias

**Awasthi, S., Pan, H., LeDoux, J. E., Cloitre, M., Altemus, M., McEwen, B., Silbersweig, D., & Stern, E.** (2020). The bed nucleus of the stria terminalis and functionally linked neurocircuitry modulate emotion processing and HPA axis dysfunction in posttraumatic stress disorder. *NeuroImage: Clinical*, 28, 102-442. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102442>

- Casadesus, G., Shukitt-Hale, B., Stellwagen, H. M., Zhu, X., Lee, H. G., Smith, M. A., & Joseph, J. A.** (2004). Modulation of hippocampal plasticity and cognitive behavior by short-term blueberry supplementation in aged rats. *Nutritional Neuroscience*, 7(5–6), 309–316. <https://doi.org/10.1080/10284150400020482>
- Chang, S. C., Cassidy, A., Willett, W. C., Rimm, E. B., O'Reilly, E. J. y Okereke, O. I.** (2016). Dietary flavonoid intake and risk of incident depression in midlife and older women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 104(3), 704–714. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.124545>
- Contreras, C. M., Rodríguez-Landa, J. F., Gutiérrez-García, A. G., y Bernal-Morales, B.** (2001). The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurones in the rat. *Journal of Psychopharmacology*, 15(4), 231–236. <https://doi.org/10.1177/026988110101500401>
- Contreras, C. M., Martínez-Mota, L., & Saavedra, M.** (1998). Desipramine restricts estral cycle oscillations in swimming. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 22(7), 1121–1128.
- Cryan, J. F., Page, M. E., y Lucki, I.** (2005). Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. *Psychopharmacology*, 182(3), 335–344. <https://doi.org/10.1007/s00213-005-0093-5>
- Cryan, J. F., & Lucki, I.** (2000). Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 295(3), 1120–1126.
- De Kloet, E. R., & Molendijk, M. L.** (2016). Coping with the Forced Swim Stressor: Towards Understanding an Adaptive Mechanism. *Neural Plasticity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6503162>
- De Kloet, E. Ron, Joëls, M., & Holsboer, F.** (2005). Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(6), 463–475. <https://doi.org/10.1038/nrn1683>
- Detke, M. J., Johnson, J., & Lucki, I.** (1997). Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 5(2), 107–112. <https://doi.org/10.1037/1064-1297.5.2.107>
- Detke, M. J., & Lucki, I.** (1995). Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behavioural Brain Research*, 73(1–2), 43–46. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(96\)00067-8](https://doi.org/10.1016/0166-4328(96)00067-8)
- Dias, G. P., Cavegn, N., Nix, A., Do Nascimento Bevilaqua, M. C., Stangl, D., Zainuddin, M. S. A., Nardi, A. E., Gardino, P. F., y Thuret, S.** (2012). The role of dietary polyphenols on adult hippocampal neurogenesis: Molecular mechanisms and behavioural effects on depression and anxiety. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012(s/n). <https://doi.org/10.1155/2012/541971>
- Espejo, E. F., y Miñano, F. J.** (1999). Prefrontocortical dopamine depletion induces antidepressant-like effects in rats and alters the profile of desipramine during Porsolt's test. *Neuroscience*, 88(2), 609–615. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00258-9)
- Fang, J. L., Luo, Y., Jin, S. H., Yuan, K., & Guo, Y.** (2020). Ameliorative effect of anthocyanin on depression mice by increasing monoamine neurotransmitter and up-regulating BDNF expression. *Journal of Functional Foods*, 66, 103757. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103757>
- Fernández-Demeneghi, R., Rodríguez-Landa, J. F., Guzmán-Gerónimo, R. I., Acosta-Mesa, H. G., Meza-Alvarado, E., Vargas-Moreno, I., & Herrera-Meza, S.** (2019). Effect of blackberry juice

- (*Rubus fruticosus* L.) on anxiety-like behaviour in Wistar rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(7), 856–867. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1580680>
- Fernández-Demeneghi, R.** (2017). Evaluación del efecto del jugo de zarzamora (*Rubus fruticosus*) sobre la ansiedad experimental en la rata Wistar. Universidad Veracruzana. Instituto de Neuroetología. Xalapa. <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/48374>
- Golovinskaia, O.** y Wang, C.K. Review of Functional and Pharmacological Activities of Berries. *Molecules* 2021, 26, 3904. <https://doi.org/10.3390/molecules26133904>
- Gutiérrez-García, A. G., Contreras, C. M., Mendoza-López, M. R., García-Barradas, O., y Cruz-Sánchez, J. S.** (2007). Urine from stressed rats increases immobility in receptor rats forced to swim: Role of 2-heptanone. *Physiology and Behavior*, 91(1), 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.02.006>
- Hall, B. J., Pearson, L. S., y Buccafusco, J. J.** (2010). Effect of the use-dependent, nicotinic receptor antagonist BTMPS in the forced swim test and elevated plus maze after cocaine discontinuation in rats. *Neuroscience Letters*, 474(2), 84–87. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.03.011>
- Hammen, C.** (2005). Stress and depression. *Annual Review of Clinical Psychology*, 1, 293–319. <https://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.1.102803.143938>
- Hemby, S. E., Lucki, I., Gatto, G., Singh, A., Thornley, C., Matasi, J., [...] y Dworkin, S. I.** (1997). Potential antidepressant effects of novel tropane compounds, selective for serotonin or dopamine transporters. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282(2), 727-733.
- Huremović, D.** (2019). Brief history of pandemics (pandemics throughout history). En Huremović, D. (eds) *Psychiatry of Pandemics*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-15346-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-15346-5_2)
- Imran, I., Javaid, S., Waheed, A., Rasool, M. F., Majeed, A., Samad, N., Saeed, H., Alqahtani, F., Ahmed, M. M., y Alaqil, F. A.** (2021). *Grewia asiatica* Berry Juice Diminishes Anxiety, Depression, and Scopolamine-Induced Learning and Memory Impairment in Behavioral Experimental Animal Models. *Frontiers in Nutrition*, 7(January), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.587367>
- Jaffar-Medina, V., Rosado-Pérez, A. L., Flores-Serrano, A. G., Torres-Escalante, J. L., y Pineda, J. C.** (2020). Los índices depresivos y antidepresivos durante la prueba de nado forzado se asocian diferencialmente con la estación del año y el ciclo estral en ratas Wistar hembras. *Revista Biomédica*, 31(2), 69-75.
- Joëls, M., & Baram, T. Z.** (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature reviews neuroscience*, 10(6), 459-466.
- Kendler, K. S., Karkowski, L. M., & Prescott, C. A.** (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *American Journal of Psychiatry*, 156(6), 837–841. <https://doi.org/10.1176/ajp.156.6.837>
- Khalid, S., Barfoot, K. L., May, G., Lamport, D. J., Reynolds, S. A., y Williams, C. M.** (2017). Effects of acute blueberry flavonoids on mood in children and young adults. *Nutrients*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/nu9020158>
- Landgraf, D., Long, J. E., y Welsh, D. K.** (2016). Depression-like behaviour in mice is associated with disrupted circadian rhythms in nucleus accumbens and periaqueductal grey. *European Journal of Neuroscience*, 43(10), 1309–1320. <https://doi.org/10.1111/ejn.13085>
- Li, X. L., Yuan, Y. G., Xu, H., Wu, D., Gong, W. G., Geng, L. Y., Wu, F. F., Tang, H., Xu, L., & Zhang, Z. J.** (2015). Changed synaptic plasticity in neural circuits of depressive-like and escitalopram-treated rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(10), 1–12. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv046>



- Lino** de Oliveira, C., Bolzan, J. A., Surget, A., & Belzung, C. (2020). Do antidepressants promote neurogenesis in adult hippocampus? A systematic review and meta-analysis on naive rodents. *Pharmacology and Therapeutics*, 210, 107515. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107515>
- Lupien**, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 434–445. <https://doi.org/10.1038/nrn2639>
- Martirosyan**, D. M., y Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 209–223. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v5i6.183>
- National Research Council [NRC]**. (2011). Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the care and use of laboratory animals*, 327(3), 963-965.
- NOM-062-ZOO-1999**, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- O'Mahony**, C. M., Sweeney, F. F., Daly, E., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2010). Restraint stress-induced brain activation patterns in two strains of mice differing in their anxiety behaviour. *Behavioural Brain Research*, 213(2), 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.04.038>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]**. (2021). Depresión. Recuperado 5 de junio de 2021, en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/depression>
- Paxinos**, G. (2014). *The rat brain in stereotaxic coordinates: Hard cover edition* (6a ed.). Academic Press.
- Peña-Sanhueza**, D., Inostroza-Blancheteau, C., Ribera-Fonseca, A., y Reyes-Díaz, M. (2017). Anthocyanins in Berries and Their Potential Use in Human Health. En N. Shiomi, & V. Waisundara (Eds.), *Superfood and Functional Food - The Development of Superfoods and Their Roles as Medicine*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/67104>
- Pérez-Esparza**, R. (2017). Tratamiento farmacológico de la depresión: actualidades y futuras direcciones. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 60(5), 7-16.
- Pérez-Esparza**, R., Kobayashi-Romero, L. F., García Mendoza, A. M., Lamas-Aguilar, R. M., Vargas Sosa, M., Encarnación-Martínez, M., González-Manríquez, L. A., Eternod-Rodríguez, S. A., Maltos-Gómez, F., Vargas-Valencia, K. M., & Fonseca Pérez-Amador, A. (2020). Ketamina, un nuevo agente terapéutico para la depresión. *Revista de La Facultad de Medicina*, 63(1), 6–13. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.63.1.02>
- Porsolt**, R. D., Le Pichon, M., y Jalfre, M. L. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732.
- Quick**, J. C., & Henderson, D. F. (2016). Occupational stress: Preventing suffering, enhancing wellbeing. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(5), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ijerph13050459>
- Rapp**, A., Dodds, A., Walkup, J. T., & Rynn, M. (2013). Treatment of pediatric anxiety disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1304(1), 52–61. <https://doi.org/10.1111/nyas.12318>
- Ravindran**, L. N., & Stein, M. B. (2010). The pharmacologic treatment of anxiety disorders: a review of progress. *The Journal of clinical psychiatry*, 71(7).
- Rivadeneira-Domínguez**, E., Vázquez-Luna, A., Rodríguez-Landa, J. F., Mérida-Portilla, C. V., & Díaz-Sobac, R. (2017). The protective effect of two commercial formats of Ginkgo biloba on motor alterations induced by cassava juice ( *Manihot esculenta* Crantz) in Wistar rats. *Neurología (English Edition)*, 32(8), 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2016.02.010>

- Rivadeneira-Domínguez, E., Vázquez-Luna, A., Rodríguez-Landa, J. F., & Díaz-Sobac, R. (2014).** A standardized extract of Ginkgo biloba prevents locomotion impairment induced by cassava juice in Wistar rats. *Frontiers in Pharmacology*, 5(SEP), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00213>
- Rynn, M., Puliafico, A., Heleniak, C., Rikhi, P., Ghalib, K., y Vidair, H. (2011).** Advances in pharmacotherapy for pediatric anxiety disorders. *Focus*, 9(3), 299-310.
- Snehunsu, A., Nayak, S. B., Kandwal, M., Piyali, A., Adiga, M., Sahoo, P., Medabala, T., Rao, K. R., y Joseph, A. (2019).** 1-triacontanol cerotate isolated from *Marsilea quadrifolia* Linn. Safeguards hippocampal CA3 neurons and augments special memory deficit in chronic epileptic rats. *International Journal of Morphology*, 37(1), 265–272. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022019000100265>
- Souery, D., Papakostas, G. I., & Trivedi, M. H. (2006).** Treatment-resistant depression. *Journal of Clinical Psychiatry*, 67, 16.
- Tomić, M., Ignjatović, D. D., Tovilović-Kovačević, G., Krstić-Milošević, D., Ranković, S., Popović, T., y Glibetić, M. (2016).** Reduction of anxiety-like and depression-like behaviors in rats after one month of drinking: Aronia melanocarpa berry juice. *Food and Function*, 7(7), 3111–3120. <https://doi.org/10.1039/c6fo00321d>
- UVEHAVIOR, (2020).** UVEHAVIOR, link: <https://github.com/Manolomon/uvehavior-desktop/releases>
- Valcheva-Kuzmanova, S., Eftimov, M., Denev, P., Krachanova, M., & Belcheva, A. (2013).** Effect of aronia melanocarpa fruit juice on alcohol-induced depressive-like behavior in rats. *Scripta Scientifica Medica*, 45, 7-13.
- Van Praag, H. M., de Kloet, E. R., & Van Os, J. (2004).** *Stress, the brain and depression*. Cambridge University Press.
- Vogt, B. A. (2016).** Midcingulate cortex: Structure, connections, homologies, functions and diseases. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 74, 28–46. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2016.01.010>
- Williams, R. J., Mohanakumar, K. P., y Beart, P. M. (2016).** Neuro-nutraceuticals: Further insights into their promise for brain health. *Neurochemistry International*, 95, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.03.016>
- Yamamoto, T., Iwamoto, T., Kimura, S., & Nakao, S. (2018).** Persistent isoflurane-induced hypotension causes hippocampal neuronal damage in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *Journal of Anesthesia*, 32(2), 182–188. <https://doi.org/10.1007/s00540-018-2458-z>
- Zhu, Y., Liu, F., Zou, X., & Torbey, M. (2015).** Comparison of unbiased estimation of neuronal number in the rat hippocampus with different staining methods. *Journal of Neuroscience Methods*, 254, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.07.022>