



VNIVERSITAT
D VALÈNCIA

Programa de Doctorado
en Neurociències

Tesis doctoral

Influencia del estado depresivo y la administración de ketamina sobre la conducta y la actividad neuronal en ratón



Esteban Merino Madroño

Valencia, Mayo de 2023

Tesis doctoral dirigida por:

Dra. Joana Martínez i Ricós



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

Doctorado en Neurociencias

**Influencia del estado depresivo y la
administración de ketamina sobre la
conducta y la actividad neuronal en ratón**

Esteban Merino Madroño

Directora:

Joana Martínez i Ricós

Valencia, Mayo de 2023

Esteban Merino Madroñero:
Influencia del estado depresivo y la administración de ketamina sobre la conducta y la actividad neuronal en ratón, © 2023

DIRECCIÓN DE LA TESIS:

Dra. Joana Martínez i Ricós

Valencia, Mayo de 2023



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Joana Martínez i Ricós, doctora per la Universitat de València i Professora del Departament d'Anatomia i Embriologia Humana de la Facultat de Medicina de la Universitat de València

CERTIFICA QUE:

Esteban Merino Madroño, graduat en Psicologia per la Universitat de Salamanca, ha realitzat sota la seva direcció el treball titulat: Influencia del estado depresivo y la administración de ketamina sobre la conducta y la actividad neuronal en ratón

Perquè així conste, en compliment de la legislació, signe aquest certificat:

En València a 12 de Maig del 2023.

Joana Martínez i Ricós

A mis padres.

A quien seré en el futuro,
desde el pasado.

LAS ETAPAS DEL DOCTORADO EN FRASES*

* y por ende, las de la carrera científica

Etapa (pre)predoctoral. Años de universidad y máster

*“Escucha, Morty. Lamento decirlo, pero lo que la gente llama ‘amor’ es sólo una reacción química que motiva a los animales a aparearse. Es un golpe duro, Morty, y lentamente se desvanece dejándote varado en un matrimonio fallido. Yo lo hice. Tus padres lo harán. Rompe el ciclo, Morty. Alzate por encima. **Enfócate en la ciencia.**”*

Rick Sánchez

Cuando empiezas el doctorado y la gente te pregunta a que te dedicas*

* Esta pregunta suele ir acompañada de un: “¡Ah! Entonces, ¿todavía sigues estudiando?” (Spoiler: da igual cual sea la respuesta que des. Siempre te dicen eso).

“Solía ser un aventurero como tú hasta que me dieron un flechazo en la rodilla.”

NPC Skyrim

Cuando vas por la mitad de tu etapa doctoral*

* Y ya te empiezas a oler la tostada

“The cake is a lie.”

Doug Rattman. Portal I y II

La frase más escuchada durante el doctorado*

* Además, esta frase ha sido dicha por varias personas, las cuales, en ocasiones no tienen relación entre sí

“¡Si es que no te educó!”

Mucha gente. Muchas veces. Y sobre todo, mi directora de Tesis

EL FINAL*

* Que por supuesto, no es para nada el final. Ya me han avisado de que lo peor empieza a partir de aquí

*“Hijos, os habéis esforzado. Y, ¿Para qué? Para hacer el ridículo. La moraleja es: **No os esforcéis.**”*

Homer Simpson

Los trastornos depresivos son un conjunto de patologías caracterizadas principalmente por la expresión de un estado de ánimo triste o irritable, y de anhedonia. De todas las patologías que se incluyen dentro de esta categoría, la que más prevalencia presenta es la depresión mayor; la padece 3,4 % de la población, la mayoría mujeres.

Respecto a su etiología y manifestaciones clínicas, se han detectado un conjunto de estructuras cerebrales cuya anatomía y función se ven afectadas en este trastorno, entre las que parecen destacar áreas como el hipocampo (HPC) y la corteza prefrontal ventromedial (vmPFC). Además, también se ha observado una relación muy estrecha entre depresión y alteraciones en la arquitectura del sueño.

El tratamiento de primera línea de la depresión mayor es el farmacológico, en concreto, el uso de medicamentos que afectan a los niveles de monoaminas, dado que se ha considerado la alteración de este sistema como la causa principal de la patología. Sin embargo, estos tratamientos presentan limitaciones, siendo las principales el tiempo que tardan en actuar (4-6 semanas) y su baja efectividad (50 % de la población). Debido a estas limitaciones, desde hace unos años se ha puesto el foco en el desarrollo de nuevas terapias, basadas en otros aspectos de la fisiopatología de la enfermedad, y entre las que destaca el uso de la ketamina. Este fármaco, un antagonista de los receptores NMDA, tiene un efecto antidepresivo rápido, e incluso sobre pacientes resistentes a otros tratamientos. Sin embargo, el uso de la ketamina también presenta inconvenientes, basados fundamentalmente, en que induce sintomatología psicótica inmediata a su administración (previa al efecto antidepresivo). Por ello es crítico ajustar la dosis buscando los máximos efectos beneficiosos y los mínimos indeseados.

Por otro lado, en los últimos años se ha incidido en la necesidad de definir biomarcadores tanto de la patología de la depresión, como de los efectos antidepresivos/psicóticos de la ketamina, dado que la investigación de ambos fenómenos teniendo en cuenta el factor sexo es aún reducida. De esta manera se mejoraría en el diagnóstico de la enfermedad, y se optimizaría el uso del fármaco. Además, se ha hecho patente la importancia de estudiar en modelos animales hembra tanto la depresión como los efectos de la ketamina, dado que la investigación de ambos fenómenos teniendo en cuenta el factor sexo es reducida.

Por todo esto, el objetivo inicial de esta Tesis Doctoral es el de caracterizar a nivel conductual, en machos y en hembras de ratón, el potencial efecto antidepresivo y psicótico de dos dosis de ketamina de rangos muy diferentes, una baja, 5 mg/kg, y una alta, 30 mg/kg, para estudiar la relación efectos beneficiosos/perjudiciales de cada dosis a lo largo del tiempo. Además, analizaremos la actividad eléctrica de la parte dorsal del HPC y vmPFC y cómo se ven afectadas la arquitectura del sueño y la expresión de moléculas relacionadas con plasticidad sináptica, al administrar ambas dosis, con el objetivo proponer biomarcadores del efecto potencialmente antidepresivo y psicótico en machos de ratón. El siguiente objetivo es estudiar el efecto antidepresivo de la dosis que haya mostrado mejor relación efecto antidepresivo/efecto psicótico en los experimentos previos, sobre un modelo de depresión por administración crónica de corticosterona en hembras de ratón. Con este estudio pretendemos caracterizar también biomarcadores propios de la enfermedad y del efecto antidepresivo de la dosis estudiada. Los resultados obtenidos en esta Tesis nos han permitido comprobar que, aunque ambas dosis den lugar un efecto psicótico inicial, la generada por la dosis baja es de menor duración e intensidad que el inducido por la alta. Además, este efecto es más leve en hembras que en machos. Así mismo, ambas dosis muestran un potencial efecto antidepresivo igual, y con el mismo perfil en

ambos sexos: un efecto rápido (2 horas), que se mantiene al día siguiente y que desaparecería a los 7 días.

El efecto psicótico se reflejaría a través de cambios iniciales en las oscilaciones gamma tales como: incrementos en su potencia y una hipersincronización en estas frecuencias entre el HPC y la vmPFC; cambios en las potencias SW, theta y beta; descensos en la comunicación entre estas estructuras; aumentos del acoplamiento fase-amplitud; e incrementos de la excitación neuronal. También observamos que potencial efecto antidepresivo, en animales sin depresión, es el mismo para ambas dosis, y se refleja a las 2 y 24 horas, a través del aumento de proteínas implicadas con la plasticidad cerebral, el aumento de comunicación en la oscilación beta entre ambas estructuras y un aumento del sueño de ondas lentas (SWS). Estos resultados permiten proponer que la dosis de 5 mg/kg tendría más beneficios que la de 30 mg/kg debido a su menor efecto psicótico.

En la segunda parte de la Tesis Doctoral, hemos podido comprobar que la dosis de 5 mg/kg revierte los comportamientos de tipo depresivo en hembras de ratón sometidas a un paradigma de administración crónica de corticosterona, y hemos podido proponer marcadores electrofisiológicos de este estado depresivo, que son revertidos por 5 mg/kg de ketamina, siendo de especial importancia: la disminución de la onda lenta en la corteza, unida a la disminución de la comunicación entre HPC-vmPFC en esta misma oscilación y el deterioro en la arquitectura de sueño 21 días después del inicio del tratamiento. Además, también se identificaron cambios en las oscilaciones theta propios del estado ansioso que acompaña a la depresión. Todos estos parámetros mejoran tras la administración de 5 mg/kg de ketamina. Además, vemos marcadores del estado depresivo que la ketamina no consigue mejorar, como la disminución en el acoplamiento de fase en las frecuencias HFO; y del efecto de la ketamina, pero que no habían sido previamente afectados por la inducción mediante administración crónica de corticosterona, como son el incremento del acoplamiento entre la onda lenta de la vmPFC y el gamma del HPCd.

Como resultado final, también hemos comprobado y discutido que la ketamina produce efectos diferentes sobre la actividad eléctrica del cerebro del ratón en función del cuál sea el estado inicial del mismo, por lo que no es equivalente el estudio en animales normales que en aquellos sometidos a paradigmas experimentales para inducir estados depresivos.

INTRODUCCIÓN	3
Una visión global de los trastornos depresivos	3
Etiología de la depresión	4
Del estrés a la depresión	7
El circuito neuronal de la depresión: el cerebro “deprimido”	10
Hipocampo	10
La corteza prefrontal	13
Otras estructuras afectadas en la depresión: la amígdala y la habénula lateral	17
Tratamiento del trastorno depresivo	20
Tratamiento farmacológico actual: el papel de los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina	20
Nuevos fármacos antidepresivos basados en la transmisión glutamatérgica	23
<i>Glutamato: receptores y cinética</i>	23
<i>El papel dual de la ketamina en la transmisión glutamatérgica y su efecto antidepresivo</i> ..	26
<i>La función plástica de los receptores glutamatérgicos</i>	28
<i>La influencia de la ketamina en los procesos de plasticidad</i>	32
El concepto de biomarcador y su importancia en el contexto de la depresión y las terapias antidepresivas	34
El papel de la electrofisiología en la búsqueda de biomarcadores de depresión y del efecto antidepresivo	35
<i>Las oscilaciones cerebrales</i>	35
<i>Las oscilaciones cerebrales como biomarcadores de procesos cognitivos</i>	37
<i>Las oscilaciones cerebrales como biomarcadores de patología</i>	39
El sueño como biomarcador: cambios en su arquitectura en la depresión y tras el uso de terapias antidepresivas	40
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	47
MATERIAL Y MÉTODOS	53
Sujetos experimentales	53
Diseños experimentales	53
Experimento I	53
Experimento II	54
Experimento III	55
Experimento IV	57
Experimento V	58

Cirugías e implantación de electrodos	59
Adquisición de la señal	61
Verificación histológica	61
Análisis de los datos electrofisiológicos	62
Análisis de los Componentes Independientes.....	63
Análisis de estados	64
Análisis de la potencia: la Transformada rápida de Fourier	68
Determinación de los periodos de análisis a través de los espectros de potencia: análisis de componentes principales y agrupación de clústers.....	69
<i>Análisis de los Componentes principales</i>	70
<i>Uso de los componentes principales para la determinación de periodos de análisis en el experimento III</i>	71
La potencia espectral en el dominio del tiempo: análisis <i>wavelet</i>	75
Análisis del acoplamiento fase – amplitud	77
Acoplamiento fase – fase	79
Información mutua	81
Balance excitación/inhibición	83
Determinación de los periodos de sueño	84
Administración de fármacos	86
Test conductuales	86
Laberinto elevado en O (<i>OMaze</i>)	86
<i>Materiales</i>	87
<i>Procedimiento</i>	87
<i>Variables medidas</i>	87
Test de reconocimiento del objeto novedoso (NORT)	87
<i>Materiales</i>	88
<i>Procedimiento</i>	88
<i>Criterios de exclusión</i>	88
<i>Variables medidas</i>	89
<i>Otras variables analizadas</i>	89
Test de natación forzada (FST).....	90
<i>Materiales</i>	90
<i>Procedimiento</i>	90
<i>Variables medidas</i>	91
Test de suspensión de la cola (TST)	91
<i>Materiales</i>	91

<i>Procedimiento</i>	91
<i>Criterios de exclusión</i>	92
<i>VARIABLES MEDIDAS</i>	92
Prueba de alimentación suprimida por la novedad (<i>Novelty</i>)	92
<i>Materiales</i>	92
<i>Procedimiento</i>	92
<i>VARIABLES MEDIDAS</i>	93
Análisis de la conducta	93
Procedimiento comunes a todos los análisis	95
Análisis del test <i>OMaze</i>	97
Análisis del test NORT	99
Análisis del test FST	100
Análisis del test TST	101
Análisis del test <i>Novelty</i>	102
Análisis Molecular: Extracción de proteínas y Western Blot	103
Análisis estadísticos	106
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	111
Estudio sobre los efectos conductuales, moleculares y electrofisiológicos de la ketamina	111
Resultados	111
Experimento I: Estudio del potencial efecto antidepresivo y psicomimético de una dosis baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) de ketamina y su evolución temporal, en machos y hembras de ratón	111
La ketamina produce un efecto psicótico inmediato que ya no es observable a las dos horas tras su administración. Este efecto es de mayor magnitud a mayor dosis y superior en machos que en hembras	111
La ketamina produce un efecto antidepresivo detectable a las 2 horas tras su administración y que persiste hasta 24 horas, pero desaparece los 7 días	126
Experimento II: Estudio de los efectos sobre la expresión de proteínas relacionadas con plasticidad sináptica inducidos por dos dosis de ketamina con potencial antidepresivo, una baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) en HPC y vmPFC	129
La ketamina aumenta la expresión de proteínas relacionadas con procesos de plasticidad cerebral en el hipocampo	129
Experimento III: Efectos sobre la actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC producidos por la administración de ketamina a 5 y 30 mg/kg	132
La ketamina provoca cambios particulares en la actividad de HPCd y vmPFC y con diferente perfil temporal según la dosis	132

La administración de ketamina afecta a las potencias de las oscilaciones en HPCd y vmPFC, pero de manera diferente entre estructuras y según la dosis administrada	135
El balance excitación/inhibición del HPCd y de vmPFC se ven afectados por la administración de ketamina de manera particular según la estructura y la dosis de ketamina administrada ...	138
La ketamina aumenta el acoplamiento fase-amplitud inmediatamente después de su administración, tanto en vmPFC como en HPCd, pero de manera diferente según la estructura y la dosis empleada	139
La ketamina altera la comunicación entre HPCd y vmPFC, pero de manera diferente según la dosis administrada.....	147
La ketamina aumenta la cantidad de sueño de ondas lentas 24 horas después de su administración	150
Discusión	152
La ketamina induce efectos psicomiméticos a ambas dosis estudiadas, pero los producidos por la dosis de 30 mg/kg son de mayor magnitud y duración que los generados por la dosis de 5 mg/kg; además, los machos parecen ser más sensibles a este compuesto que las hembras, especialmente a dosis altas.....	152
Ambas dosis de ketamina estudiadas muestran potencial antidepresivo a las 2 y a las 24 horas tras su administración, pero no a la semana. Este efecto parece igual entre sexos.....	156
La ketamina induce cambios moleculares relacionados con la plasticidad sináptica.....	157
Tanto la dosis de 5 mg/kg como la de 30 mg/kg producen cambios en la actividad eléctrica del circuito HPCd-vmPFC, pero con un perfil temporal diferente, siendo de mayor duración y magnitud aquellos provocados por la dosis alta	160
La ketamina altera rápidamente y de forma duradera la potencia de las oscilaciones en HPCd y vmPFC, el balance excitación/inhibición y el acoplamiento fase-amplitud en HPCd y en vmPFC, además de la comunicación entre ambas áreas	161
<i>Las oscilaciones gamma</i>	<i>162</i>
<i>Cambios en otras oscilaciones: delta, theta y beta</i>	<i>163</i>
<i>La administración de ketamina tiene un efecto sobre el balance excitación/inhibición de magnitud y perfil temporal dependientes de la dosis</i>	<i>165</i>
<i>La administración de ketamina afecta al acoplamiento fase amplitud en vmPFC y en HPCd</i>	<i>166</i>
La administración de ketamina aumenta el sueño de ondas lentas 24 horas después de su administración	167
Las oscilaciones cerebrales como sustrato de los efectos psicóticos de la ketamina	168
Marcadores oscilatorios y moleculares del efecto antidepresivo de la ketamina.....	172
Coste/beneficio de la ketamina: ¿Qué dosis utilizar?	175
Estudio del desarrollo de un estado depresivo generado por la administración crónica de corticosterona y del efecto antidepresivo de la ketamina	177
Resultados	177

Experimento IV: Estudio del desarrollo de conductas de tipo depresivo y ansioso en un modelo de depresión por administración crónica de corticosterona en hembras de ratón	177
El tratamiento crónico con corticosterona provoca comportamientos de tipo depresivo.....	177
Experimento V: Estudio en hembras de ratón del efecto antidepressivo de 5 mg/kg de ketamina. Análisis de la actividad de vmPFC y HPCd como posible sustrato funcional del estado depresivo generado por la corticosterona y de la mejora sintomatológica generada por la ketamina	180
La administración de 5 mg/kg de ketamina revierte los síntomas de tipo depresivo y ansioso producidos por el tratamiento crónico con corticosterona	181
El estado depresivo inducido por la administración crónica de corticosterona altera las potencias de algunas oscilaciones cerebrales y la administración de 5 mg/kg de ketamina revierte algunos de estos efectos	185
Ni el tratamiento crónico inducido por la administración de corticosterona, ni la administración de 5 mg/kg de ketamina parece afectar al acoplamiento fase-amplitud dentro de las estructuras estudiadas.....	188
El estado depresivo inducido por la corticosterona va acompañado de alteraciones de la comunicación entre HPCd y vmPFC y la ketamina revierte este efecto. La ketamina aumenta la comodulación de la SW de vmPFC con el gamma bajo del HPCd.....	190
El tratamiento crónico con corticosterona provoca un descenso de la proporción de sueño de onda lenta, y la ketamina revierte esta alteración	197
Discusión	200
El tratamiento crónico con corticosterona induce conductas de tipo depresivo y ansioso. La administración aguda de 5 mg/kg de ketamina revierte estos efectos.....	200
El tratamiento crónico con corticosterona altera la actividad neuronal de vmPFC e HPCd y la administración aguda de 5 mg/kg de ketamina revierte algunos de estos cambios	201
<i>La manifestación de conductas de tipo depresivo va acompañada de una disminución en la potencia de las oscilaciones lentas en vmPFC y de la comunicación en esta oscilación entre las estructuras estudiadas. La mejora sintomatología observable a las 24 horas de la administración de 5 mg/kg se refleja en la recuperación de estas alteraciones de la actividad eléctrica</i>	202
<i>La manifestación de conductas de tipo depresivo va acompañada de cambios en la oscilación theta; la administración de 5 mg/kg evita algunos de estos cambios</i>	203
<i>Tanto la manifestación de conductas de tipo depresivo como la administración de ketamina se acompañan de alteraciones en la banda gamma, pero estos cambios no parecen estar relacionados entre sí</i>	204
<i>Los cambios en el acoplamiento fase-amplitud podrían subyacer el restablecimiento de la comunicación entre el HPC y la vmPFC tras la administración de ketamina</i>	205
El tratamiento crónico con corticosterona provoca un descenso de la proporción de sueño de onda lenta que la ketamina repara	206
Posibles biomarcadores del estado depresivo inducido por tratamiento crónico con corticosterona y de la mejora sintomatológica generada por la administración aguda de 5 mg/kg de ketamina	207

DISCUSIÓN GENERAL	211
El efecto de la ketamina sobre la conducta: potencial efecto antidepresivo y efecto antidepresivo, e inducción de sintomatología psicótica y ansiosa de la dosis de 5 mg/kg	211
El efecto de la ketamina sobre la actividad cerebral es diferente en animales con conductas de tipo depresivo que en animales “sin depresión”	211
La ketamina mejoraría la estructura del sueño independientemente del estado previo del cerebro	213
LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS	217
CONCLUSIONES	221
BIBLIOGRAFÍA	227
ANEXOS	273
Anexo I: Código utilizado para la clasificación de los estados del animal (MATLAB)..	273
Anexo II: Código utilizado para el análisis del <i>OMaze</i> (RStudio).....	285
Anexo III: Código utilizado para el análisis del NORT (RStudio).....	293
Anexo IV: Código utilizado para el análisis FST (RStudio).....	297
Anexo V: Código utilizado para el análisis del TST (RStudio)	301
Anexo VI: Código utilizado para el análisis del test <i>Novelty</i> (RStudio)	305
Material suplementario	309

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I.1. Prevalencia de los trastornos depresivos por países.....	4
Figura I.2. Respuestas y mecanismos de regulación del SNC ante la presencia de estresores	9
Figura I.3. Localización, anatomía y circuito trisináptico del hipocampo.....	11
Figura I.4. Divisiones anatómicas de la corteza prefrontal en humanos.....	13
Figura I.5. Resumen de evolución de las divisiones de la PFC en roedores a lo largo de los años.....	15
Figura I.6. Divisiones anatómicas, aferencias y eferencias de la corteza prefrontal en ratón.....	16
Figura I.7. Subdivisiones nucleares de la amígdala.....	18
Figura I.8. Conexiones de la habénula lateral.....	19
Figura I.9. Proyecciones serotoninérgicas y distribución de los receptores 5-HT en el cerebro.....	22
Figura I.10. Subtipos y cinética de los receptores de glutamato.....	25
Figura I.11. Formas moleculares de la ketamina, sus enantiómeros y sus metabolitos. ...	26
Figura I.12. Procesos de plasticidad sináptica: STP, LTP temprana y LTP tardía.....	30
Figura I.13. Procesos de plasticidad sináptica: mantenimiento de la sinapsis y LTD.....	31
Figura I.14. Mecanismos de plasticidad sináptica originados por la ketamina.....	33
Figura I.15. Representación de las oscilaciones cerebrales que componen un LFP.	36
Figura I.16. Propiedades de una oscilación.....	37
Figura I.17. Proceso de acoplamiento fase-amplitud entre las SW, las <i>spindles</i> y las <i>ripples</i> en el hipocampo.....	39
Figura I.18. EEG de la vigilia, el sueño e hipnogramas.....	42
Figura MM.1. Esquema del diseño experimental realizado en el experimento I.....	54
Figura MM.2. Esquema del diseño experimental realizado en el experimento II.....	55
Figura MM.3. Esquema del diseño experimental realizado en el experimento III.....	56
Figura MM.4. Esquema del diseño experimental realizado en el experimento IV.....	57
Figura MM.5. Esquema del diseño experimental realizado en el experimento V.....	59
Figura MM.6. Soporte y tapas realizados para asegurar la integridad de los electrodos.	61

Figura MM.7. Esquema de la posición final de los electrodos	62
Figura MM.8. “ <i>The cocktail party problem</i> ” y su relación con la extracción de componentes independientes	64
Figura MM.9. Clasificación de estados mediante las señales de HPCd y EMG.	66
Figura MM.10. Análisis de la potencia a través de la transformada de Fourier.	69
Figura MM.11. Determinación de los periodos de tiempo de análisis de cada registro mediante la aplicación de métodos de <i>clustering</i>	72
Figura MM.12. Métodos de agrupamiento de clústers.	74
Figura MM.13. Transformada de <i>wavelet</i>	76
Figura MM.14. Análisis del acoplamiento fase amplitud; comodulogramas	79
Figura MM.15. Acoplamiento fase – fase, medido como PLV	81
Figura MM.16. Representación de la información mutua a través de diagramas de Venn	83
Figura MM.17. Cálculo del balance excitación/inhibición.	84
Figura MM.18. Determinación de los periodos de análisis del sueño.	85
Figura MM.19. Puntos etiquetados y análisis realizado en el test <i>OMaze</i>	98
Figura MM.20. Puntos etiquetados y análisis realizado en el test NORT.	99
Figura MM.21. Puntos etiquetados y análisis realizado en el test FST.	100
Figura MM.22. Puntos etiquetados y análisis realizado en el test TST.	101
Figura MM.23. Puntos etiquetados y análisis realizado en el test <i>Novelty</i>	102
Figura MM.24. Extracción del HPC y la PFC.	104
Figura E-I.1. Exploración durante la fase de entrenamiento y test del NORT inmediato	112
Figura E-I.2. Comparaciones múltiples de la triple interacción (<i>dosis*sexo*tiempo</i>) de la evolución temporal de la exploración.	114
Figura E-I.3. Discriminación total de ambos objetos y su evolución a lo largo del NORT inmediato	116
Figura E-I.4. Evolución temporal de la locomoción, ataxias y estereotipias durante las fases de entrenamiento y test del primer NORT	120
Figura E-I.5. Comparaciones múltiples de la triple interacción (<i>dosis*sexo*tiempo</i>) de la evolución temporal de las ataxias	122
Figura E-I.6. Exploración total, discriminación y evoluciones temporales de la exploración, locomoción y ataxias durante el NORT realizado a las 2 horas tras la administración	125

Figura E-I.7. TST realizado a las 2 horas de la administración de ketamina	127
Figura E-I.8. FST realizado a las 24 horas de la administración de ketamina	127
Figura E-I.9. FST realizado 7 días después de la administración de ketamina.....	128
Figura E-II.1. Cambios moleculares del HPC y vmPFC 2 horas después de la administración de ketamina/salino.....	130
Figura E-II.2. Cambios moleculares del HPC y vmPFC 24 horas después de la administración de ketamina/salino	131
Figura E-III.1. Dinámica temporal de los cambios a nivel de actividad eléctrica de HPCd	133
Figura E-III.2. Dinámica temporal de los cambios a nivel de actividad eléctrica de vmPFC	134
Figura E-III.3. Potencia, frecuencia pico de la oscilación theta y balance excitación/inhibición de HPCd y vmPFC tras la administración de 5 y 30 mg/kg ketamina.	136
Figura E-III.4. Comodulación intra-estructuras en HPCd y vmPFC (5 mg/kg)	141
Figura E-III.5. Comodulación intra-estructuras de HPCd (30 mg/kg).	144
Figura E-III.6. Comodulación intra-estructuras de vmPFC (30 mg/kg).	146
Figura E-III.7. Información mutua y PLV tras la administración de ketamina.	149
Figura E-III.8. Efectos de la administración de ketamina sobre la arquitectura del sueño.	151
Figura E-IV.1. Efectos en el comportamiento tras el tratamiento crónico con corticosterona.....	179
Figura E-V.1. Efectos sobre la conducta tras el tratamiento crónico con corticosterona y la posterior administración de ketamina (5 mg/kg) o salino	184
Figura E-V.2. Cambios en la potencia de las oscilaciones en la vigilia tranquila tras la administración crónica de corticosterona y el tratamiento con ketamina o salino y según el grupo	186
Figura E-V.3. Acoplamiento fase-amplitud intra-estructuras del HPCd y la vmPFC. Comodulogramas promedio de cada grupo a lo largo de los días de tratamiento.	189
Figura E-V.4. Cambios en la información mutua y el acoplamiento de fase entre el HPCd y la vmPFC.	192
Figura E-V.5. Acoplamiento entre las amplitud de las oscilaciones rápidas de vmPFC a la fase de las lentas de HPCd.	194
Figura E-V.6. Acoplamiento entre las amplitud de las oscilaciones rápidas de HPCd a la fase de las lentas de vmPFC.	196

Figura E-V.6. Cambios en la arquitectura del sueño tras el tratamiento con corticosterona y la administración de ketamina..... **198**

LISTA DE TABLAS

Tabla MM.1. Coordenadas estereotáxicas	60
Tabla MM.2. Cálculo de las variables medidas en el test NORT	89
Tabla MM.3. Entrenamientos, interacciones y valores de error obtenidos tras el entrenamiento de la red en cada uno de los test conductuales	95
Tabla E-I.1. Valores estadísticos de la evolución temporal de la discriminación absoluta, la exploración del objeto nuevo y del antiguo durante el primer NORT	118
Tabla E-I.2. Valores estadísticos de las evoluciones temporales durante el primer NORT	124
Tabla E-I.3. Valores estadísticos de las evoluciones temporales durante el segundo NORT (2 horas después)	126
Tabla E-III.1. Valor del índice cofenético de los clústers obtenidos	132
Tabla 1 suplementaria: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de HPCd (5 mg/kg)	309
Tabla 2 suplementaria: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de vmPFC (5 mg/kg)	311
Tabla 3 suplementaria: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de HPCd (30 mg/kg)	313
Tabla 4 suplementaria: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de vmPFC (30 mg/kg)	315
Tabla 5 suplementaria: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas intraestructura de HPCd	317
Tabla 6 suplementaria: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas intraestructura de vmPFC	319
Tabla 7 suplementaria: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas entre-estructuras (Fase de HPCd y amplitud de vmPFC)	321
Tabla 8 suplementaria: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas entre-estructuras (Fase de vmPFC y amplitud de HPCd)	323

- 5-HT**: serotonina o 5-hidroxitriptamina.
- 5-HT1-7**: receptores serotoninérgicos.
- 5-HT1A**: autorreceptor serotoninérgico somatodendríticos.
- 5-HT1B/D**: autorreceptores serotoninérgicos situados en las terminaciones sinápticas.
- 5-HTP**: 5-hidroxitriptófano.
- ACC**: corteza cingulada anterior.
- ACCr**: corteza cingulada anterior parte rostral.
- ACCsg**: corteza cingulada anterior subgenual.
- ACTH**: hormona secretora de corticotropina.
- Akt**: proteína quinasa B.
- AMPA**: receptor α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico.
- AMPc**: adenosín monofosfato cíclico.
- ANS**: sistema nervioso autónomo.
- APA**: Asociación americana de psiquiatría.
- BA**: amígdala basal.
- BDNF**: factor neurotrófico derivado del cerebro.
- BLA**: amígdala basolateral.
- BNST**: núcleo del lecho de la estría terminal.
- CA**: asta de Ammon.
- Ca²⁺**: iones de calcio.
- CaMKII**: proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina II.
- CaMKs**: quinasas típicas.
- CeA**: núcleo central de la amígdala.
- CeL**: porción lateral de la amígdala central.
- CeM**: porción medial de la amígdala central.
- Cg**: área cingulada subgenual.
- CREB**: cAMP responsive element binding protein.
- CRH**: hormona liberadora de corticotropina.
- D1**: discriminación absoluta.
- D2**: índice de discriminación.
- D3**: índice de preferencia.
- DA**: dopamina.
- DBS**: estimulación cerebral profunda.
- DG**: giro dentado.
- dmPFC**: corteza prefrontal dorsomedial.
- DSM-5**: manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales.

- eEF2**: factor de elongación eucariota 2.
eEF2K: quinasa del factor de elongación eucariota 2.
Eje HPA: eje hipotalámico – hipofisario – adrenal.
EPSP: potencial postsináptico excitatorio.
ERK: quinasas reguladas por señales extracelulares.
FDA: administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos.
FST: test de natación forzada.
fmi: fórceps menor del cuerpo caloso
GABA: ácido gaba-aminobutírico.
GCs: glucocorticoides.
GluR: subunidades de los receptores glutamatérgicos.
GR: receptor de glucocorticoides.
GTPasas: guanosinas trifofatasas.
HCN: canales iónicos activados por hiperpolarización de nucleótidos cíclicos.
HNK: hidroxinorketamina.
HPC: hipocampo.
HPCd: hipocampo dorsal.
HPCv: hipocampo ventral.
ICA: Análisis de componentes independientes
iGluR: receptores ionotrópicos de glutamato.
IHME: Instituto de medidas y Evaluación Sanitarias.
IL: corteza infralímbica.
IMAO: enzima monoamino oxidasa.
K⁺: ion de potasio.
KA: receptor kainato.
LA: amígdala lateral.
LC: locus coeruleus.
LFP: potenciales de campo local.
LHb: habénula lateral.
LTD: depresión a largo plazo.
LTP: potenciación a largo plazo.
MAGUK: proteínas guanilato quinasas asociadas a membranas.
MAO: monoamino oxidasa.
MDt: núcleo dorsomedial del tálamo.
MeA: núcleo medial de la amígdala.
mEPSC: corrientes postsinápticas en miniatura.
Mg²⁺: ion magnesio.
mGluR: receptores metabotrópicos de glutamato.

mPFC: corteza prefrontal medial.
MR: receptor mineralocorticoide.
mTOR: diana de rapamicina en mamíferos.
mTOR1: diana de rapamicina en células de mamífero 1.
NA: noradrenalina.
NA⁺: iones de sodio.
NAc: núcleo accumbens.
NMDA: receptores N-metil-D-aspartato.
NORT: test de reconocimiento del objeto novedoso.
OFC: áreas orbitofrontales.
OMS: organización mundial de la salud.
PAC: acoplamiento fase-amplitud.
PCA: componente principal.
PCA: análisis de componentes principales.
PFC: corteza prefrontal.
PI3K: fosfatidilinositol 3-quinasa.
PKA: proteína quinasa A.
PKC: proteína quinasa C.
PL: corteza prelímbica.
PLv: corteza prelímbica ventral.
PP1: proteína fosfatasa.
PVN: núcleo paraventricular de hipotálamo.
REM: sueño con movimiento oculares rápidos.
RN: núcleos del rafe.
SAM: sistema simpático adrenomedular.
SAPs: postura estirada de atención.
SCG: giro cingulado subcaloso.
SERT: transportador de serotonina.
SNC: sistema nervioso central.
SSRI: inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.
STP: potenciación a corto plazo.
SW: oscilaciones lentas.
SWS: sueño de ondas lentas.
TrkB: receptor de tirosina quinasa B.
TST: test de suspensión de la cola.
VGCC: canales de calcio activados por voltaje.
vIPFC: corteza prefrontal ventrolateral.
vmPFC: corteza prefrontal ventromedial.

VTA: área tegmental ventral.

V_e : potencial.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Una visión global de los trastornos depresivos

Los trastornos depresivos son un conjunto de patologías caracterizadas principalmente por la expresión persistente de un estado de ánimo triste o irritable, o sensación de vacío. El Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-5) incluye dentro de este grupo, patologías tales como el trastorno de desregulación disruptiva del estado de ánimo, la depresión mayor, el trastorno depresivo persistente o distimia, el trastorno disfórico premenstrual y los trastornos depresivos producidos por sustancias/medicamentos o enfermedades. También se incluye el grupo de los “no especificados”, dentro del cual entrarían aquellos trastornos que no cumplen criterios diagnósticos suficientes para pertenecer a alguno de los anteriores (APA, 2014).

De todas estas patologías, la más conocida y que mayor prevalencia tiene es la depresión mayor. Este trastorno se manifiesta a través de un gran abanico de síntomas, siendo los principales (y necesarios para su diagnóstico) el estado de ánimo deprimido y la disminución del interés por las actividades de la vida diaria, o anhedonia. También existe una disminución de la capacidad para pensar, concentrarse o tomar decisiones, y sentimientos de inutilidad o culpabilidad excesiva o inapropiada, que pueden llegar a rozar el delirio. Algunos síntomas de la depresión pueden manifestarse de una manera, o de su forma opuesta, según el sujeto; por ejemplo, algunos individuos pueden mostrar insomnio y otros hipersomnia, algunos agitación y otros disminución psicomotriz, y también puede padecerse pérdida o aumento de peso (APA, 2014). Además, se ha caracterizado que el primer episodio de la enfermedad se produce normalmente alrededor de los 19 años (Solmi et al., 2022).

De todos los síntomas que presenta el trastorno de depresión mayor, el más peligroso es, sin duda, el pensamiento suicida, o el intento de suicidio en sí. La organización mundial de la salud (OMS) estima que unas 703.000 personas se suicidan al año en el mundo, siendo ésta la segunda causa de muerte entre las personas entre 15 y 29 años (OMS, 2022). Aunque no todas las personas con depresión desarrollan esta tendencia, está demostrada la relación entre ambos fenómenos (Ferrari et al., 2014) y que padecer la patología aumenta el riesgo de suicidio (A. T. Cheng et al., 2000; Cavanagh et al., 2003; Arsenault-Lapierre et al., 2004; Yoshimasu et al., 2008).

Por otro lado, la presencia de estos síntomas no es suficiente para diagnosticar la enfermedad, sino que, para confirmarla, se debe comprobar que provocan un deterioro clínicamente significativo en el sujeto a nivel personal, laboral y social, además de estar presentes casi todos los días durante al menos 2 semanas (APA, 2014).

En relación con su prevalencia, se estima que en 2021 un 10,7% de la población mundial padecía alguna enfermedad mental en general. De este porcentaje, aproximadamente un 3,4% correspondería a depresión (**Figura I.1**), superada solo, y levemente, por los trastornos de ansiedad (3,8%; Dattani et al., 2021). La tasa de incidencia en Europa y en España es más elevada que las mundiales, siendo de un 6,38% (Arias-de la Torre et al., 2021) y 5,19% (IHME, 2019), respectivamente, representado esto un coste de unos 10 millones de euros al año en España (Parés-Badell et al., 2014). Y tanto en España como en toda Europa, y en todo el mundo, la incidencia de la enfermedad en mujeres duplicaría a la de los hombres

(IHME, 2019; Arias-de la Torre et al., 2021). Es importante destacar, que en la investigación en modelos animales actual, la variable sexo está poco considerada, y esto ocurre, en especial, en la trabajos acerca de trastornos mentales (Holdcroft, 2007; Beery & Zucker, 2011; Will et al., 2017). Además, gran parte de la investigación, en general, se ha llevado a cabo en machos (Beery & Zucker, 2011).

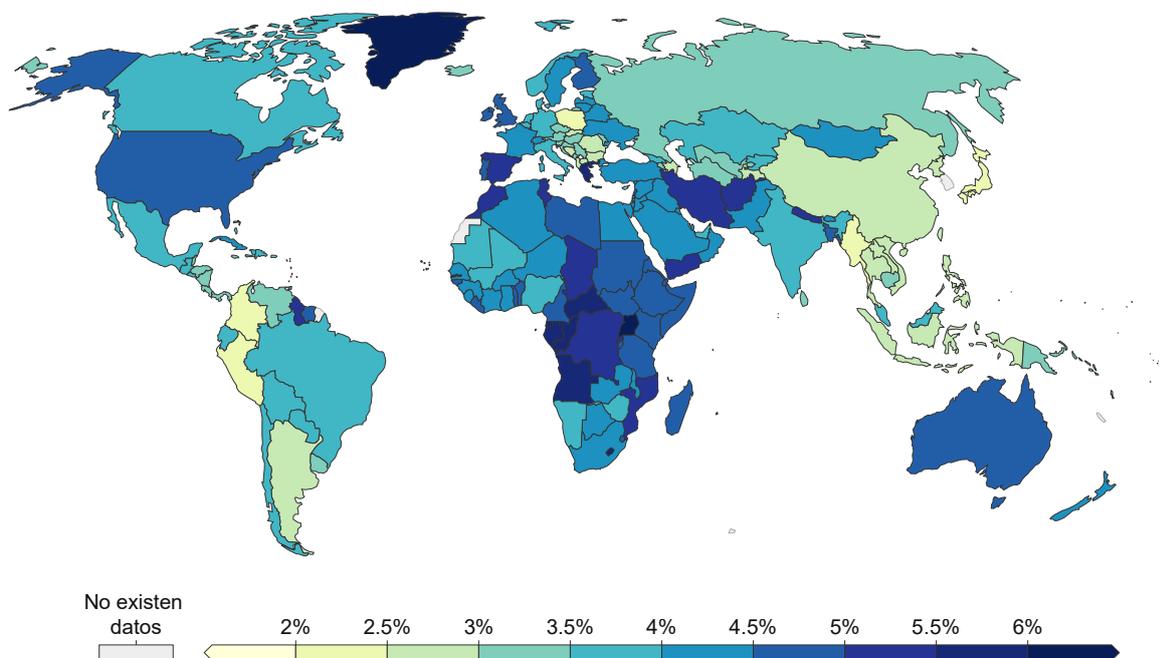


Fig. I.1: Prevalencia de los trastornos depresivos por países en 2019. Adaptada de Dattani et al. (2021).

Etiología de la depresión

La depresión es una enfermedad compleja, y actualmente no existe un consenso sobre sus causas. En la década de los 60 surgió la primera teoría que trató de explicar el origen de este grupo de enfermedades. Así, Schildkraut (1965) y Coppen (1967) sentaron las bases de lo que se conoce actualmente como “Teoría Monoaminérgica de la Depresión”, que postula que esta enfermedad se debe a una disminución de la función de neurotransmisores monoaminérgicos (Delgado, 2000) como son la serotonina (5-HT), producida principalmente en los Núcleos del Rafe (RN, del inglés *Raphe Nucleus*. Steinbusch, 1981); la noradrenalina (NA), procedente del Locus Coeruleus (LC; van Dongen, 1981) y la dopamina (DA), sintetizada en el Área Tegmental Ventral (VTA, del inglés *Ventral Tegmental Area*. Oades & Halliday, 1987).

Actualmente, casi todos los fármacos que se utilizan para tratar la depresión se basan en esta teoría y, aunque tienen potente efecto antidepressivo, su eficacia seguramente podría incrementarse si se tuvieran en cuenta otros aspectos de la etiología del trastorno. El principal problema que presentan es que, a pesar de que producen un aumento inmediato de la transmisión monoaminérgica, la mejora del estado de ánimo no se produce hasta varias semanas después de iniciar el tratamiento (Celada et al., 2004; Artigas, 2013; Quentin et al., 2018).

Además, la causa de esta patología dista mucho de ser una simple deficiencia de las monoaminas (V. Krishnan & Nestler, 2008). De hecho, la eliminación experimental de los neurotransmisores monoaminérgicos no altera el estado de ánimo en las personas (Delgado et al., 1999; Delgado,

2000; Ruhè et al., 2007) e incluso existen metaanálisis recientes que cuestionan la asociación entre la depresión y los niveles de 5-HT (Moncrieff et al., 2022). Es decir, la teoría en sí misma como, los fármacos basados en ella, presentan lagunas y limitaciones. Por esta razón, en los últimos años se ha dado peso a otras hipótesis que explican el origen de los trastornos depresivos y desde las que se pueda desarrollar nuevas aproximaciones terapéuticas con mecanismos de acción distintos basados en estos otros aspectos de la patología.

Por un lado, ya alrededor de 1960 se demostró la existencia de índices elevados de cortisol en pacientes de depresión (Gibbons & McHugh, 1962; Gibbons, 1964), descubrimiento que reflejaba la importancia del estrés y de las alteraciones del eje Hipotalámico - Hipofisario - Adrenal (Eje HPA, del inglés *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis*) en la etiología de estos trastornos. En consonancia, se ha observado en pacientes de depresión una liberación exagerada de glucocorticoides (GCs) junto a mayores concentraciones de estos en plasma y saliva (Christensen et al., 1985; Høifødt et al., 2019), un aumento de la expresión de la hormona secretora de corticotropina (ACTH. Londen et al., 1998; Holsboer, 2000; Pace & Miller, 2009) y cambios en la expresión de los receptores a los que se unen, o en sus efectos funcionales (Holsboer, 2000; Gillespie & Nemeroff, 2005; Swaab et al., 2005). Todo eso apoya la teoría de que un estrés psicosocial sostenido, ya sea en la adultez o en los primeros años de la vida (Pechtel & Pizzagalli, 2011), junto a la falta de estrategias de afrontamiento del sujeto provocará una desregulación del eje HPA y de las hormonas implicadas en la respuesta al estrés, pudiendo desencadenar esto en el desarrollo de un trastorno depresivo (Hasler, 2010).

Los cambios en el eje HPA también se asocian a un deterioro de la función cognitiva (Keller et al., 2016) y el fracaso en la regulación del eje HPA se asociaría a una mala respuesta del tratamiento antidepressivo y a elevados índices de recaída (Nelson & Davis, 1997). Sin embargo, esta hipótesis no está carente tampoco de limitaciones, ya que no se ha producido una traslación exitosa de estos conceptos a tratamientos eficaces. De hecho, ni los fármacos que modifican la función del eje HPA, ni aquellos antagonistas de los receptores de GCs, han mostrado resultados significativos en los ensayos clínicos (Hasler, 2010; Stetler & Miller, 2011). A pesar de las limitaciones, esta teoría podría integrarse en otras más recientes, como las basadas en la neuroinflamación o las que explicarían la depresión a través de cambios en la plasticidad sináptica (Pittenger & Duman, 2007; Z. Wu et al., 2021).

La hipótesis sobre neuroinflamación sugiere que el incremento de los factores inflamatorios en el sistema nervioso provocará una respuesta de las células gliales (astrocitos y microglía), e incluso de leucocitos, que migran desde la periferia, que resultaría en daños neuronales, e incluso muerte neuronal por apoptosis (Wohleb et al., 2018). En última instancia esto provocaría la aparición de la sintomatología depresiva al producirse estos fenómenos en áreas límbicas (Furtado & Katzman, 2015).

Los estudios de Maes (1995) y Levine et al. (1999) describieron por primera vez la asociación entre la depresión y los marcadores de inflamación, y a lo largo de los años se han ido realizando estudios que confirmarían dicha relación. Felger & Lotrich (2013) hallaron niveles elevados de marcadores proinflamatorios en pacientes deprimidos, y, en coherencia, se ha demostrado que la inducción de inflamación puede provocar sintomatología depresiva (C. E. Wright et al., 2005). Además, parece existir aumento de prevalencia de trastornos autoinmunes en las personas con depresión (Pasco et al., 2010).

Los estudios anteriores parecen poner de manifiesto que existe una interacción bidireccional entre ambos factores -depresión e inflamación-; pero, además, ambos fenómenos estarían relacionados con alteraciones en el circuito del estrés. Por un lado, se sabe que la inflamación,

debido a la alta demanda metabólica que genera, aumenta la actividad del eje HPA con el fin de movilizar los recursos necesarios para combatirla. Este aumento de actividad del eje HPA propiciaría el incremento de citoquinas proinflamatorias y la inducción de un estado de ánimo depresivo o “estado de enfermedad” ya que provocaría una reducción del gasto energético general del sujeto, dirigiéndose los recursos al sistema inmunitario a combatir la enfermedad (Chrousos, 2000; Straub et al., 2010). Por otro lado, los GCs aumentan la inflamación, aumentando los niveles de citoquinas proinflamatorias (Smyth et al., 2004; Sorrells et al., 2009).

En situaciones estresantes breves, este proceso se considera adaptativo; de esta manera se responde al evento estresante, que podría tratarse de una de infección y, por tanto, conviene que se active el sistema inmunitario (Black, 2003). Pero en situaciones de estrés persistente o crónico, también se mantienen una respuesta sostenida del sistema inmunitario, que puede ser perjudicial. En este caso, la microglía activada libera señales inflamatorias en áreas del cerebro, como la corteza prefrontal medial (mPFC, del inglés *medial Prefrontal Cortex*) o el hipocampo (HPC), generando en ellas neurodegeneración (L. L. Hurley & Tizabi, 2012), así como un deterioro de los fenómenos de plasticidad (DiSabato et al., 2016).

Por otro lado, se propone que estos daños en la plasticidad sináptica puedan ser también elementos clave del desarrollo de los trastornos depresivos. En concreto, se han visto alteraciones de los niveles de proteínas reguladoras, como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, del inglés *Brain-derived neurotrophic factor*) o la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR, del inglés *mammalian Target Of Rapamycin*). En particular, se han detectado disminuciones de BDNF a pacientes con trastorno depresivo mayor (V. Krishnan & Nestler, 2008) que pueden restablecerse través de terapias antidepresivas, ya sea de tipo farmacológico o psicológico (Martinowich et al., 2007; Molendijk et al., 2013). Además, la disminución de este factor provoca la atrofia neuronal, la reducción de la densidad sináptica y la pérdida de células, lo cual también se ha visto reflejado en estudios *postmortem* de pacientes con depresión mayor (Rajkowska et al., 1999).

Resulta interesante que las variaciones en plasticidad vistas en depresión también se han relacionado con alteraciones en el sistema del estrés. Así, se ha demostrado que el estrés crónico conduce a una disminución sostenida de los factores neuroprotectores como BDNF o mTOR. Esto se ha interpretado como una limitación del cerebro para adaptarse a un entorno cambiante, lo cual afectaría de manera negativa al sujeto (Kashdan & Rottenberg, 2010; Price & Duman, 2019). Además, el estrés sostenido reduce la plasticidad en zonas como la mPFC y HPC (R. S. Duman & Aghajanian, 2012; Ota et al., 2014; R. S. Duman et al., 2016) comprometiendo el aprendizaje y la capacidad de afrontamiento del estrés del individuo (Price & Duman, 2019). Pero, sin embargo, provoca incremento de plasticidad, en otras estructuras, como en la amígdala y en las vías que unen el VTA y el núcleo accumbens (NAc). Estos cambios también contribuirían a la aparición/mantenimiento de la depresión debido a la consolidación de pensamientos negativos repetitivos (uno de los rasgos centrales de la depresión) y la aparición de sesgos cognitivos y comportamientos inflexibles (Roosendaal et al., 2009; Patel et al., 2018; Koo et al., 2019; Price & Duman, 2019).

Finalmente, en los últimos años se ha incidido también en la importancia de la alteración de los neurotransmisores glutamato (excitador) y ácido gaba-aminobutírico (GABA; inhibidor) en el contexto de la depresión. Estos son los neurotransmisores más abundantes en el cerebro, y su desbalance se manifestaría como un desequilibrio entre la excitación/inhibición (Krystal et al., 2002; Sanacora et al., 2008). Estudios in vivo de pacientes con trastornos del estado de ánimo, sugieren la presencia de anormalidades, en los niveles de glutamato (de Graaf et al., 2003; Shirayama et al., 2017), además de una disminución de los receptores N-metil-D-aspartato

(NDMA) y de su funcionalidad (Nowak et al., 1995; Scarr et al., 2003). En cuanto al GABA, la depresión se asocia a menudo con la disminución de la función GABAérgica (Rajkowska et al., 1999; Epperson et al., 2006), mientras que diversas manipulaciones antidepresivas tienden a aumentarla (Kalueff & Nutt, 2007).

Es importante destacar que tanto el estrés (R. S. Duman et al., 2019) como la neuroinflamación (Troubat et al., 2021) inducen oscilaciones en estos neurotransmisores. Además, algunos de los fármacos con efecto antidepresivo descritos recientemente y que afectan directamente a estos sistemas de neurotransmisores, se ha visto que mejoran la plasticidad lo que provoca mejoría de síntomas (Martinowich et al., 2007; Molendijk et al., 2013).

Del estrés a la depresión

Todo lo descrito en el apartado anterior pone de manifiesto que, pese a lo complejo de la etiología de la depresión, el estrés parece un elemento clave en su desarrollo, en concreto, parece que especialmente la exposición a estresores de manera sostenida (Hasler, 2010). Por supuesto, pueden también ser claves otros elementos, como una predisposición genética (Caspi et al., 2003) o la ausencia de estrategias de afrontamiento del estrés (Olf, 1999).

Un estresor se define como todo aquel estímulo o situación percibida como amenazante, y que conlleva el reclutamiento de circuitos neurales que activan las respuestas fisiológicas y conductuales que garanticen la integridad fisiológica y la supervivencia (McEwen, 2000; Ulrich-Lai & Herman, 2009; Tsigos et al., 2020). El procesamiento del estresor comenzará principalmente en regiones del tronco del encéfalo y el hipotálamo, y se llevará a cabo en dos fases (Herman et al., 2003; Joëls & Baram, 2009; Ulrich-Lai & Herman, 2009).

La primera fase, la más rápida (**Figura I.2**), se caracteriza por la liberación de adrenalina y noradrenalina por parte del LC y de las glándulas suprarrenales, a través del Sistema simpático adrenomedular (SAM, del inglés *Sympathetic Adrenal Medullary system*. Kloet et al., 2005; Joëls & Baram, 2009; Tank & Wong, 2015). Y la activación del sistema nervioso autónomo (ANS, del inglés *Autonomic Nervous System*). Ambos sistemas generarán una respuesta rápida consistente en cambios fisiológicos: incremento del estado de alerta, aumento de la frecuencia cardíaca/consumo de oxígeno y un aumento de la metabolización de la glucosa. Todas estas reacciones preparan al cuerpo para situaciones de lucha o huida (Cannon, 1929; Ulrich-Lai & Herman, 2009; Lucassen et al., 2014).

La segunda fase, algo más lenta (**Figura I.2**), provocará la activación del eje HPA. Esta activación se da por la llegada de NA al núcleo paraventricular de hipotálamo (PVN, del inglés *hypothalamic paraventricular nucleus*; Cunningham & Sawchenko, 1988) lo cual provoca la secreción de hormona liberadora de corticotropina (CRH, del inglés *Corticotropin releasing hormone*. Sawchenko et al., 1992; Joëls & Baram, 2009). Al alcanzar ésta la hipófisis anterior o adenohipófisis, se iniciará la secreción de la ACTH en sangre, lo cual finalmente generará la secreción de GCs desde las glándulas suprarrenales (cortisol en humanos y corticosterona en roedores; de Kloet et al., 2016) en el torrente sanguíneo (Vale et al., 1978). La elevación de los niveles de GCs en sangre ejerce un efecto autolimitador de los mismos a través de un feedback negativo sobre la liberación de CRH y ACTH (Dallmant & Yates, 1969) manteniendo los niveles de hormonas del estrés en los niveles adecuados según la situación.

Una de las propiedades de estas hormonas es la facilidad que tienen para traspasar la barrera hematoencefálica, lo que permite su rápida adhesión a los dos receptores situados en el cerebro: el receptor de glucocorticoides (GR) y el receptor mineralocorticoide (MR. Reul & Kloet, 1985;

Kloet et al., 2005). El receptor MR muestra una afinidad 10 veces mayor por la corticosterona que los receptores GR (Reul & Kloet, 1985) y esta diferencia se traduce también en que los MR son los primeros en ocuparse y en activarse tras la percepción del estresor. La distribución de estos receptores en el cerebro no es uniforme, los MR se encuentran mayoritariamente en neuronas de la amígdala, el hipocampo, el septo lateral y algunas áreas corticales que facilitarían el inicio de las respuestas conductuales ante el estrés (Kloet et al., 2005). Los GR, en cambio, se encontrarían en el núcleo PVN y en neuronas de estructuras límbicas que inciden en la red hipotalámica inhibitoria (Miklós & Kovács, 2002; Herman et al., 2003). Por lo tanto, la unión con estos receptores facilitará el fin de la respuesta de estrés y la posterior recuperación (Young et al., 2004; Kloet et al., 2005).

Además de estos mecanismos de regulación del propio eje HPA sobre sí mismo, algunas áreas encefálicas, como la amígdala, el HPC y la corteza prefrontal (PFC, del inglés *prefrontal cortex*) también lo regulan (Ulrich-Lai & Herman, 2009), garantizando que la respuesta al estresor sea adaptativa (Tsigos et al., 2020). Por un lado, la amígdala, que es una estructura compleja formada de varias divisiones (el núcleo central -CeA, del inglés *central nucleus of the amygdala*-, el núcleo medial -MeA, del inglés *medial amygdala*- y el basolateral -BLA, del inglés *basolateral amygdala*- como luego explicaremos con más detalle), es capaz de estimular al eje HPA indirectamente (Feldman et al., 1995; Herman et al., 2003; Ulrich-Lai & Herman, 2009; Myers et al., 2012). Además, la llegada de noradrenalina desde el LC (Benarroch, 2015) a la amígdala tras un estímulo estresante (**Figura I.2**), facilitaría la consolidación de la memoria referente a ese estímulo y de las consecuencias que ha provocado (Galvez et al., 1996; Roozendaal et al., 2009).

Por el contrario, el HPC junto a la mPFC (**Figura I.2**), contribuirían a la inhibición del eje HPA (Jacobson & Sapolsky, 1991; Ulrich-Lai & Herman, 2009; McKlveen et al., 2015; Herman et al., 2020). En primer lugar, el HPC gracias a la gran densidad de receptores de glucocorticoides que posee (Reul & Kloet, 1985; Eekelen et al., 1988; Herman et al., 1999) facilitaría la inhibición del PVN a través de las neuronas del subículo ventral (Herman & Mueller, 2006) y la disminución de las respuestas autonómicas producidas por el estresor a través de conexiones con la mPFC (Ruit & Neafsey, 1990).

La mPFC también presenta una gran cantidad de receptores GR y MR (Ahima & Harlan, 1990; Ahima et al., 1991) que se activarían ante estresores agudos (Ostrander et al., 2003). La regulación que ejerce mPFC del eje HPA se realizará a través de conexiones sobre el núcleo del lecho de la estría terminal (BNST, del inglés *Bed Nucleus of the Stria Terminalis*) el cual, mediante inputs GABAérgicos sobre el PVN, disminuiría su respuesta (Radley et al., 2009).

En una situación fisiológica, tras la finalización de un estresor, todo el circuito anteriormente explicado llevará al organismo de nuevo a niveles homeostáticos. Sin embargo, el estrés crónico es un proceso continuado de activación que hace que el organismo no vuelva a la normalidad, produciéndose una acumulación de GCs. Esta activación sostenida también provocará cambios en los sistemas anteriormente descritos, como un aumento del tamaño de las glándulas suprarrenales y de su sensibilidad a la hormona ACTH, lo que se traducirá en una mayor liberación de glucocorticoides ante estresores agudos (Herman et al., 1995; Ulrich-Lai et al., 2006; Herman et al., 2016). El incremento de estos niveles está relacionado, a su vez, con la pérdida del feedback negativo debido a la internalización de los receptores y una hiposensibilización de GR en regiones como la PFC, el HPC y PVN (Herman et al., 1995; Gómez et al., 1996; Herman et al., 1999; Maletic et al., 2007).

En núcleos como CeA y en BNST, la exposición prologada a los glucocorticoides (Ulrich-Lai

et al., 2006; Herman et al., 2016) por estrés crónico, provocará un aumento de la expresión de CRH (S. Makino et al., 1994a, 1994b). Dado que CeA y BNST proyectan fuertemente a los circuitos efectores conductuales, neuroendocrinos y autonómicos, el aumento de la CRH provocará una reactividad a estresores normales muy elevada (Mayberg, 2003; Herman et al., 2016).

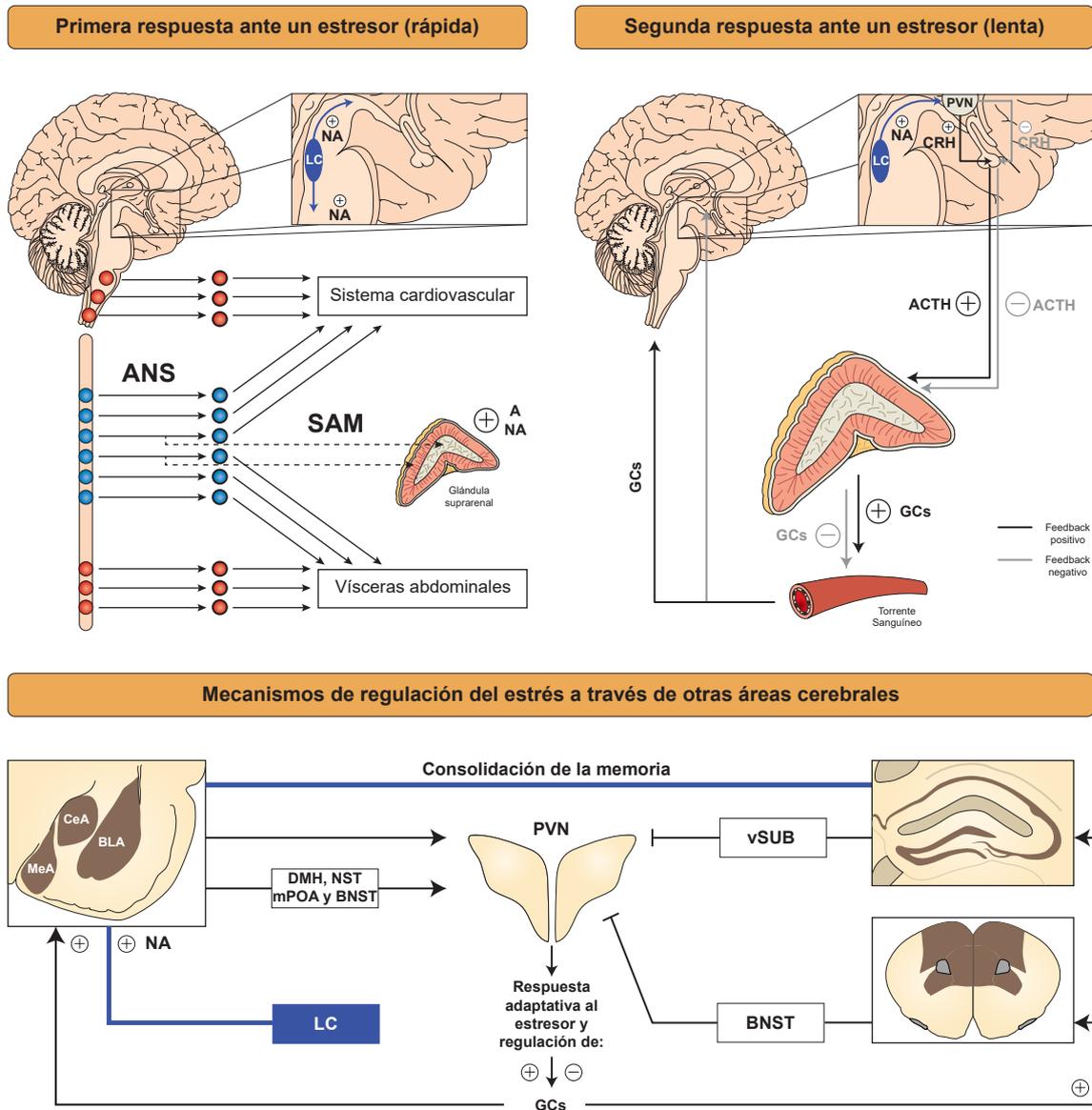


Fig. I.2: Respuestas y mecanismos de regulación del SNC ante la presencia de estresores. La primera fase (rápida) se caracterizará por la liberación de adrenalina (A) y noradrenalina (NA) por parte del LC y de las glándulas suprarrenales (a través del SAM). Esta respuesta se producirá gracias a la activación de ANS, el cual a través de neuronas preganglionares (círculos sin borde) y postganglionares (círculos con borde negro) del sistema simpático (círculos azules) y parasimpático (círculos rojos) iniciarán una serie de cambios fisiológicos que preparan al cuerpo ante situaciones de lucha o huida. La segunda fase (lenta), se caracterizará por la activación del eje HPA. La llegada de ACTH a las glándulas suprarrenales generará la secreción de GCs lo que generará dos efectos. El primero de ellos será una regulación negativa de la liberación de CRH, ACTH y GCs. El segundo de ellos será la regulación de la respuesta de estrés, para convertirla en adaptativa, a través de otras áreas cerebrales. **(Continúa en la página siguiente).**

Fig. I.2: (Continuación) La llegada de GCs a zonas como la PFC o el HPC inhibirá la respuesta del PVN a través de conexiones indirectas mediadas por BNST y el vSUB respectivamente. Sin embargo, la llegada de GCs a núcleos de la amígdala como son BLA, CeA y MeA incrementará la respuesta de PVN, generalmente por medio de conexiones indirectas realizadas a través de DMH, NST, mPOA y BNST. Además, la llegada de NA a la amígdala permitirá también la consolidación en la memoria de los eventos estresantes a través de conexiones con el HPC. **ACTH:** hormona adrenocorticotrópica; **ANS:** Sistema nervioso autónomo; **BLA:** amígdala basolateral; **BNST:** núcleo del lecho de la estría terminal; **CeA:** amígdala central; **CRH:** hormona liberadora de corticotropina; **DMH:** núcleo dorsomedial del hipotálamo; **GRs:** glucocorticoides; **HPA:** Eje hipotalámico-hipofisario-adrenal; **HPC:** hipocampo; **MeA:** amígdala medial; **mPOA:** área preóptica medial; **NST:** núcleo del tracto solitario; **PFC:** corteza prefrontal; **PVN:** núcleo paraventricular del hipotálamo; **SAM:** sistema simpático adrenomedular; **vSUB:** subículo ventral del hipocampo. Adaptada de Ulrich-Lai & Herman (2009).

Además, este aumento de la CRH generaría a su vez una hiperactividad amigdalina, debido principalmente a una reducción de la inhibición GABAérgica local, que lleva a que la amígdala deje de inhibir, y por tanto active, otras estructuras, lo que, resulta en aumentos de los niveles de CRH también en otras regiones (Partridge et al., 2016).

En resumen, en situaciones no patológicas, la mPFC se encargaría de reducir la valencia emocional del estímulo provocando una respuesta adaptativa al estresor. Sin embargo, cuando el estrés es sostenido, la hiperactividad amigdalina y de los núcleos del tronco del encéfalo, junto a los propios cambios que induce el estrés crónico sobre la corteza, que hacen que esté hipoactiva, sobrepasarían su capacidad regulatoria-inhibitoria, lo que provocará en último término, el desarrollo de depresión (Mayberg, 2003; Dean & Keshavan, 2017).

El circuito neuronal de la depresión: el cerebro “deprimido”

El avance de las técnicas en los últimos años ha hecho posible observar los cambios estructurales y funcionales que se producen en el sistema nervioso en relación con la depresión. Esto ha permitido poner el foco sobre algunas áreas especialmente afectadas, lo que podría contribuir por un lado a comprender la enfermedad, y por otro ayudar a proponer posibles dianas terapéuticas a nivel anatómico. Algunas de las estructuras más afectadas son el hipocampo y la corteza prefrontal, que serán objeto de estudio de esta tesis doctoral, aunque la amígdala y la habénula lateral (LHb), entre otras, también sufren cambios relevantes en este trastorno.

Hipocampo

Esta estructura, junto a la corteza entorrinal y parahipocampal, forman parte de la conocida como formación hipocámpica. El hipocampo como tal se subdivide en complejo subicular, circunvolución dentada o giro dentado (DG) y el asta de Ammón (CA. Ramón y Cajal, 2007; A. David & Pierre, 2009; Haines & Mihailoff, 2019), que a su vez comprende, a lo largo de su eje transversal, tres o cuatro áreas funcionales dependiendo de la especie (en roedores CA1, CA2, CA3 y en humanos/primates se añadiría también CA4. **Figura I.3A y B**). En humanos se localiza en el lóbulo temporal, en el suelo inferomedial del asta del ventrículo lateral y se divide en anterior y posterior. En roedores se subdivide en hipocampo dorsal (HPCd) y ventral (HPCv. Strange et al., 2014; Y. Yang & Wang, 2017; Haines & Mihailoff, 2019).

CA1 es la principal salida de la información del HPC; la parte dorsal (dCA1) proyecta sobre el subículo y la corteza entorrinal, mientras que la parte ventral (vCA1) dirige sus proyecciones hacia la mPFC, la amígdala y el NAc (Phillipson & Griffiths, 1985; Jay & Witter, 1991; Cenquizca & Swanson, 2007). A su vez, a CA1 llegan proyecciones desde el DG y CA3; todo ello conforma el denominado bucle trisináptico (Treves & Rolls, 1994. **Figura I.3C**). Ya desde

principios del siglo XX se relacionó la actividad del hipocampo con la memoria episódica (Scoville & Milner, 1957) y a lo largo de años de investigación se ha confirmado este papel clave en la consolidación, entre otros aspectos fundamentales de la cognición.

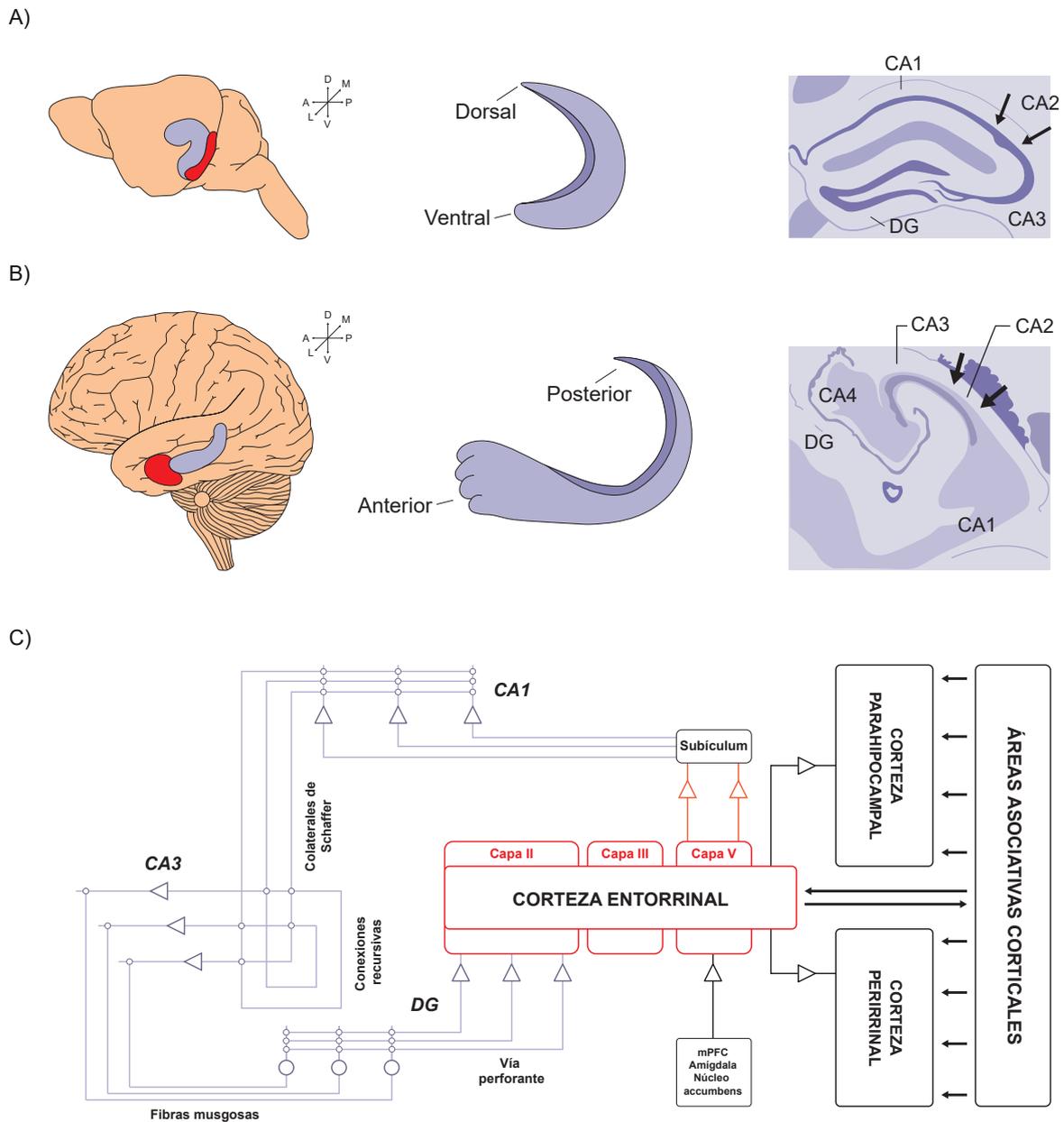


Fig. I.3: Localización, anatomía y circuito trisináptico del hipocampo. A) y B) Localización y anatomía del hipocampo en roedores (A) y humanos (B). Los ejes espaciales representan las coordenadas dorsoventral (D y V), medio-lateral (M y L) y anteroposterior (A y P). C) Circuito trisináptico del hipocampo. La corteza entorrinal recibiría proyecciones desde las áreas asociativas corticales, la corteza parahipocámpica y la corteza perirrinal y transmitiría la información desde su capa II hasta el DG a través de la vía perforante. A su vez, las neuronas granulares de DG transmitirían información, a través de las fibras musgosas, hacia las neuronas piramidales de CA3 y desde donde se enviará la información a CA1, a través de las colaterales de Schaffer. Por último, las neuronas piramidales de CA1 enviarán de vuelta la información a la corteza entorrinal (capa V) a través del subículo y esta la distribuirá a áreas como la corteza, la amígdala o en núcleo accumbens. **DG:** giro dentado; **CA:** asta de Ammón; **HPC:** Hipocampo. Adaptada de Strange et al. (2014).

Una de las alteraciones cognitivas más observadas en los trastornos depresivos es el deterioro de la memoria (Kircanski et al., 2012; Millan et al., 2012) y, en coherencia, las técnicas de neuroimagen revelan una reducción del volumen del HPC en pacientes con depresión mayor (Bearden et al., 2009; Schmaal et al., 2016; Serra-Blasco et al., 2021), que ya parece observarse tras el primer episodio de la enfermedad (Cole et al., 2011). Así mismo, algunos estudios han relacionado el grado de pérdida del volumen con la duración de la depresión no tratada a lo largo de la vida, siendo el volumen del DG de los pacientes no tratados aproximadamente la mitad que los sujetos controles y los que recibieron tratamiento (Boldrini et al., 2013; Malhi & Mann, 2018). McKinnon et al. (2009) encontraron en su metaanálisis, que la disminución del volumen parece estar correlacionada con la duración y con la gravedad de la enfermedad. Estas pérdidas de volumen en la mayoría de los casos van asociadas a cambios morfológicos de las neuronas o de las células gliales (Müller et al., 2001; Stockmeier et al., 2004; R. S. Duman, 2022).

Respecto de la influencia del estrés en este fenómeno, se sabe que, durante las fases iniciales de la respuesta al estrés se produce un aumento de los MR en el HPC (Gesing et al., 2001). Sin embargo, a medida que el estrés se cronifica y se desarrolla la depresión, estos receptores se regularán a la baja, disminuyendo la capacidad inhibitoria del HPC sobre del eje HPA (López et al., 1998; A. Medina et al., 2013; de Kloet et al., 2016). Estos cambios en el HPC llevarían a una pérdida de control deficiente del sistema HPA, lo que a su vez provocará a una regulación deficiente de los estímulos estresantes contribuyendo a la aparición de la depresión (de Kloet et al., 2016). Esta situación se ha comprobado que puede ser revertida tras el tratamiento mantenido, durante al menos 5 semanas con antidepresivos (Reul et al., 1993; López et al., 1998).

La investigación a lo largo de la historia ha permitido detallar los roles concretos de cada subdivisión del HPC. Debido a sus conexiones, la división ventral del hipocampo es la que más se relaciona con comportamientos afectivos y motivados. Por ejemplo, media conductas de ansiedad a través de sus proyecciones sobre mPFC (Ciocchi et al., 2015) y BLA (Pitkänen et al., 2000), o conductas dirigidas hacia objetivos o la memoria social modulando a NAc (Okuyama et al., 2016). En menor medida, también participa de la gestión de la memoria espacial (Buzsáki & Moser, 2013; Felix-Ortiz & Tye, 2014; Spellman et al., 2015; Y. Yang et al., 2016).

De la división dorsal (HPCd) se conoce su papel fundamental en la navegación espacial y la memoria episódica debido a la presencia de poblaciones de neuronas entre las que se encuentran: las *place cells* (células de lugar), las *grid cells* o (células en rejilla) y las *head direction cells* (células de dirección de la cabeza) que disparan cuando el sujeto se localiza en una región concreta del entorno (O'Keefe & Dostrovsky, 1971; Best et al., 2003; Moser et al., 2017; Y. Yang & Wang, 2017).

Pero HPCd también recibe proyecciones directas de la parte ventromedial de la corteza prefrontal que, como se explicará en el siguiente apartado, es la región de la corteza más fuertemente implicada en depresión y que modulan su actividad (Malik et al., 2022). De hecho, trabajos como trabajo de Jia y colaboradores 2019 demuestra como la estimulación cerebral profunda de la parte ventromedial de la corteza prefrontal (vmPFC del inglés, *ventromedial Prefrontal Cortex*) en ratas con efectos antidepresivos modifica la actividad a nivel individual de esta parte dorsal del HPC, así como su comunicación con vmPFC (Jia et al., 2019). Además, la interacción vmPFC-HPCd también se ha visto relevante en otros aspectos cognitivos relacionados con la depresión, como la gestión del estrés (Merino et al., 2021) y la ansiedad (Stefański et al., 1993; Vila-Merkle et al., 2021, 2023).

Por último, como se ha comentado con anterioridad, uno de los síntomas clave de los trastornos de depresión es la alteración del sueño. Así los cambios en las dinámicas del sueño en general (Villalobos et al., 2017; dos Santos Lima et al., 2019; Kersanté et al., 2022) y del sueño REM, en particular, se manifiestan y detectan de manera efectiva en la actividad del HPCd, incluso mejor que mediante el estudio de otras regiones (Durán et al., 2018).

La corteza prefrontal

Este área se encuentra situada en la parte anterior de lóbulo frontal, por delante de las áreas motoras y premotoras, y se extiende por toda la superficie lateral, medial y orbital/ventral (Haines & Mihailoff, 2019). Un gran número de estudios revelan la importancia de la PFC en procesos como el comportamiento dirigido a objetivos y el funcionamiento ejecutivo en general (E. K. Miller & Cohen, 2003; Wallis, 2007; Salzman & Fusi, 2010).

Esta región de la corteza está compuesta a su vez por áreas interconectadas cuyas divisiones se han definido en humanos, entre otros criterios, por sus conexiones con el núcleo dorsomedial del tálamo (MDt, del inglés *Mediodorsal thalamic nucleus*. J. Rose & Woolsey, 1948; Salzman & Fusi, 2010; Fuster, 2015). Así, según estas proyecciones, y a nivel funcional, la PFC humana se divide en varias regiones (**Figura I.4**): el área prefrontal dorsolateral (dlPFC), la dorsomedial (dmPFC), la ventromedial (vmPFC), la ventrolateral (vlPFC) y las áreas orbitofrontales (OFC, del inglés *Orbitofrontal Cortex*). Para algunos autores, también se incluiría dentro de la PFC a la corteza cingulada anterior (ACC, de inglés *Anterior Cingulate Cortex*), que comprendería las áreas de Brodman 24, 25, 32 y 33 (Carlén, 2017). Esta región también recibe aferencias del MDt y está altamente conectada con las áreas anteriormente citadas. (Salzman & Fusi, 2010; Petrides et al., 2012; Fuster, 2015; Carlén, 2017).

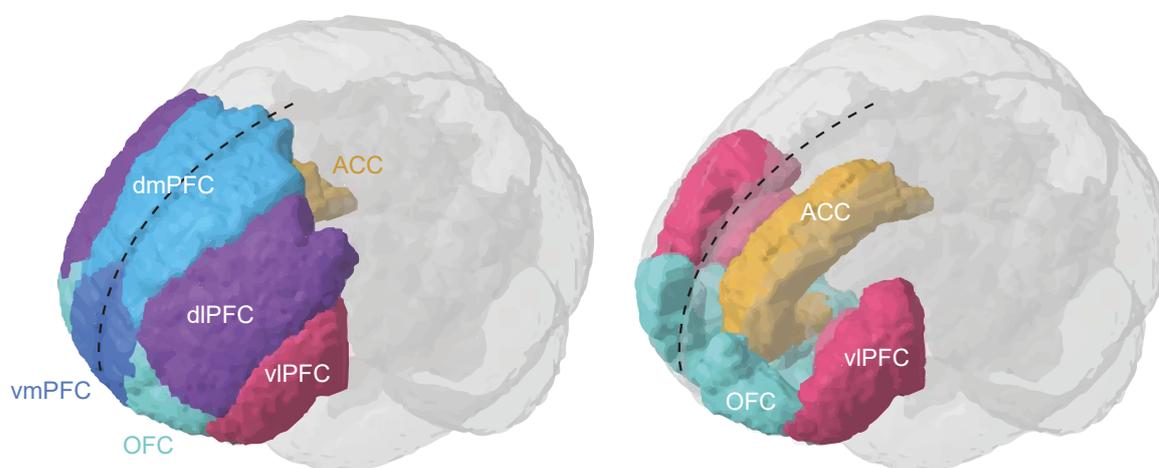


Fig. I.4: Divisiones anatómicas de la corteza prefrontal en humanos. ACC: corteza cingulada anterior; dmPFC: corteza prefrontal dorsomedial; OFC: áreas orbitofrontales de la corteza prefrontal; vlPFC: corteza prefrontal ventrolateral; vmPFC: corteza prefrontal ventromedial. Adaptada de Carlén (2017).

Como se ha mencionado anteriormente, en humanos se observan cambios en PFC en pacientes con depresión (M. S. George et al., 1994; Koenigs & Grafman, 2009; Pizzagalli & Roberts, 2021). Las investigaciones han mostrado cambios morfológicos debidos a reducciones del tamaño de los cuerpos celulares neuronales de diversas áreas de la PFC, junto a una disminución de la arborización dendrítica y de su complejidad (Rajkowska et al., 1999). También se observa un

menor número de astrocitos y de oligodendrocitos (Cotter et al., 2001; Si et al., 2004; Uranova et al., 2004)

Además, unidos a los cambios en la morfología neuronal, los pacientes con depresión mayor parecen sufrir disminuciones volumétricas de las regiones frontales, particularmente en ACC y OFC, con un descenso la materia gris (Koolschijn et al., 2009; Schmaal et al., 2016) y en las sinapsis (Kang et al., 2012; Holmes et al., 2019; Hare & Duman, 2020). Sin embargo, los metaanálisis más recientes como el de J. P. Gray et al. (2020) han puesto de manifiesto que son muy pocas áreas de la PFC las que experimentan cambios similares en todos los pacientes deprimidos. Por lo tanto, podría ser que alteraciones diferentes en otras zonas de la PFC, junto a otras comunes, sean las que expliquen la gran heterogeneidad de la enfermedad (Pizzagalli & Roberts, 2021).

Resulta muy interesante que, a nivel funcional, la manifestación de síntomas depresivos correlaciona con actividades opuestas de las partes dorsolateral y ventromedial de la PFC. En la revisión de, Koenigs & Grafman (2009) se confirmó una hiperactividad de vmPFC en reposo y una disminución de su actividad durante la remisión de la sintomatología, mientras que dlPFC muestra una hipoactividad en reposo e incrementa su actividad tras la mejoría. Además, en esta revisión se utilizaron datos de dos poblaciones diferentes (Ellenbogen et al., 2005; Koenigs et al., 2008) y se concluyó que los pacientes con lesiones en la vmPFC mostraban niveles menores de sintomatología depresiva, mientras que los que presentaban una lesión en la parte dlPFC obtenían mayores puntuaciones en test que medían este tipo de síntomas. Trabajos más recientes como los de Nejati et al. (2021, 2022) confirmaron las diferencias entre estas áreas en tareas de *stroop* emocionales.

Otros trabajos han afinado que seguramente sería específicamente la hiperactividad de vmPFC el elemento clave en depresión en humanos (Mayberg et al., 1999; Seminowicz et al., 2004; Hamani et al., 2011), y en coherencia, la administración de antidepresivos que mejoran la sintomatología revierten las alteraciones de la actividad de vmPFC (Mayberg et al., 2000; Brody et al., 2001; Mayberg, 2003). Resultados similares se han encontrado al aplicar estimulación cerebral profunda (DBS, del inglés *Deep Brain Stimulation*); esta técnica, que se muestra como una herramienta eficiente para normalizar la actividad cerebral y revertir síntomas depresivos (Kisely et al., 2018; Krauss et al., 2020) ha mostrado resultados prometedores al ser aplicada sobre diferentes partes de la vmPFC.

En concreto, se han visto mejoras tanto al aplicarla sobre giro cingulado subcalloso (SCG del inglés, *subcallosal cingulate gyrus*; Lozano et al., 2008; Martín-Blanco et al., 2015; McInerney et al., 2017), que abarcaría a las áreas de Brodmann 24, 25 y 32 (Khairuddin et al., 2020), como sobre el área cingulada subgenual (Cg del inglés, *subgenual cingulate*. Mayberg et al., 2005; Accolla et al., 2016; Richieri et al., 2016; Eitan et al., 2018; Khairuddin et al., 2020), la cual se referiría únicamente al área 25 de Brodmann, por lo que también se nombra habitualmente como Cg25 (Khairuddin et al., 2020).

El establecimiento de homologías entre regiones de PFC en humanos y primates con roedores es complejo, ya que la corteza de estos últimos es completamente agranular, careciendo de la capa IV, mientras que humanos y primates presentan tanto cortezas granulares como disgranulares (Preuss, 1995; Salzman & Fusi, 2010; Van De Werd & Uylings, 2014; Carlén, 2017; Le Merre et al., 2021). Por ello, con el fin de establecer un paralelismo entre especies, en roedores también se ha usado como criterio de definición las proyecciones del MDt (J. Rose & Woolsey, 1948; Le Merre et al., 2021). Sin embargo, también hay falta de consenso empleando este criterio, e incluso discrepancias entre rata y ratón, lo cual ha provocado que las delimitaciones de áreas en

PFC haya ido cambiando significativamente a medida que ha ido avanzando la investigación. La (**Figura I.5**), adaptada del trabajo de Le Merre et al. (2021) sintetiza esta evolución en ratón a través de distintas publicaciones.

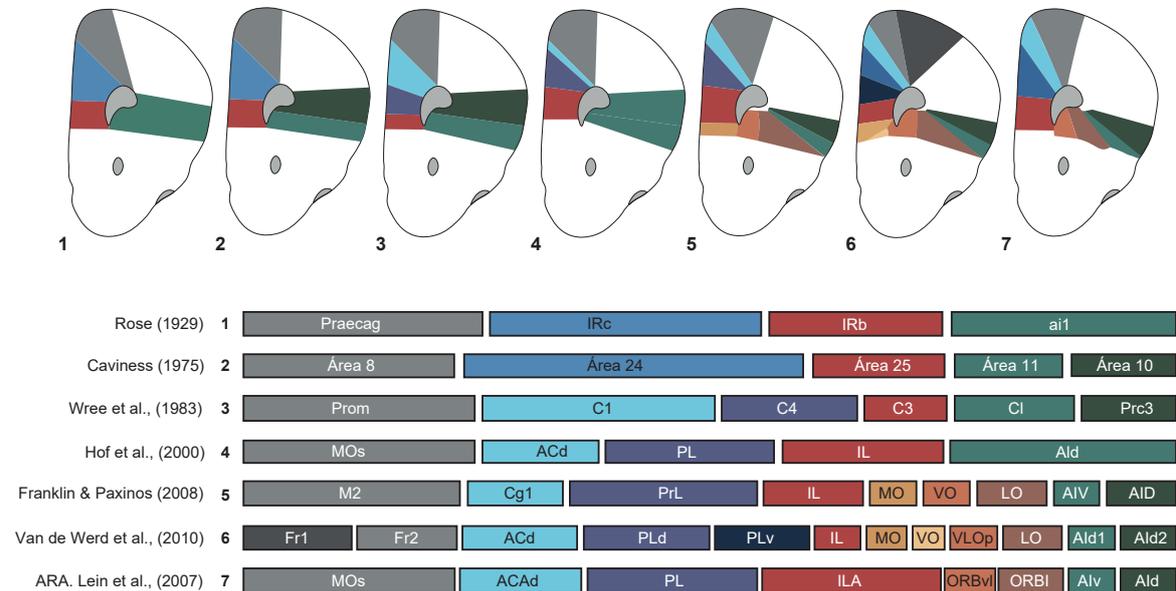


Fig. I.5: Esta síntesis se basa en las publicaciones y atlas de: M. Rose (1929), Caviness (1975), Wree et al. (1983), Hof (2000), Lein et al. (2007), Paxinos & Franklin (2008) y Werd et al. (2010). **ACAd** y **ACd**: Corteza cingulada anterior, parte dorsal; **AI1**: corteza insular agranular, parte lateral; **Aid**: corteza insular agranular, parte dorsal; **AID**, **Aid1**, **Aid2**: área insular dorsal agranular; 1, parte dorsal; 2, parte ventral; **AIV** o **Alv**: área insular ventral agranular; **C**, **1** **2** **3** y **4**: áreas cingulares; **CG**: corteza cingulada; **Cl**: claustrum; **Fr1** y **2**: áreas frontales 1 y 2; **IL** o **ILA**: corteza infralímbica; **IRb**: área infraradiata intermedia posterior; **IRc**: área infraradiata dorsal posterior; **LO**: área lateral orbital; **M2**: área motora secundaria; **MO**: corteza motora; **MOs**: área orbital medial; **ORBvl**: corteza orbital, parte lateral; **ORBvl**: corteza orbital, parte ventrolateral; **PL** o **PrL**: corteza prelímbica; **PLd**: corteza prelímbica dorsal; **PLv**: corteza prelímbica ventral; **Praecag**: área precentral agranular; **Prc**: área precentral medial; **Prom**: área prefrontal motora; **VLOp**: área orbital ventrolateral posterior; **VO**: área orbital ventral. Adaptada de Le Merre et al. (2021).

Atendiendo a los patrones de conectividad aferente (**Figura I.6B**) y eferente (**Figura I.6C**) descritos por Harris et al. (2019), estudios más recientes (Le Merre et al., 2021), proponen que los compartimentos de la PFC en ratón se podrían organizar en 3 (**Figura I.6A**): corteza prefrontal dorsomedial (dmPFC), que comprendería las cortezas motoras mediales y las cortezas cinguladas; la corteza prefrontal ventrolateral (vlPFC), dentro de la que se englobarían las divisiones orbitofrontales ventrolaterales y laterales; y la corteza prefrontal ventromedial (vmPFC), dentro de la cual quedarían incluidas la división orbitofrontal medial, la corteza prelímbica (PL, del inglés *Prelimbic Cortex*) y la corteza infralímbica (IL, del inglés *Infralimbic Cortex*. Le Merre et al., 2021). Es importante destacar que IL y PL encontrarían su homología en humanos en las áreas de Brodmann 25 (IL) y 32 (PL, Vertes, 2004; Wallis, 2011). Además, En base a datos en ratas, se ha sugerido que PL, podría estar subdividida en el eje dorsoventral, de manera que la parte superior pertenecería a dmPFC y de vmPFC en realidad formaría parte su porción más inferior (Heidbreder & Groenewegen, 2003; Gabbott et al., 2005; Vogt & Paxinos, 2014; Kamigaki, 2019; Le Merre et al., 2021).

En general en roedores se considera que las regiones ventromediales de la corteza prefrontal incluyendo IL y PL, serían homólogo a SCC-BA25 en cuanto a los efectos antidepresivos de la

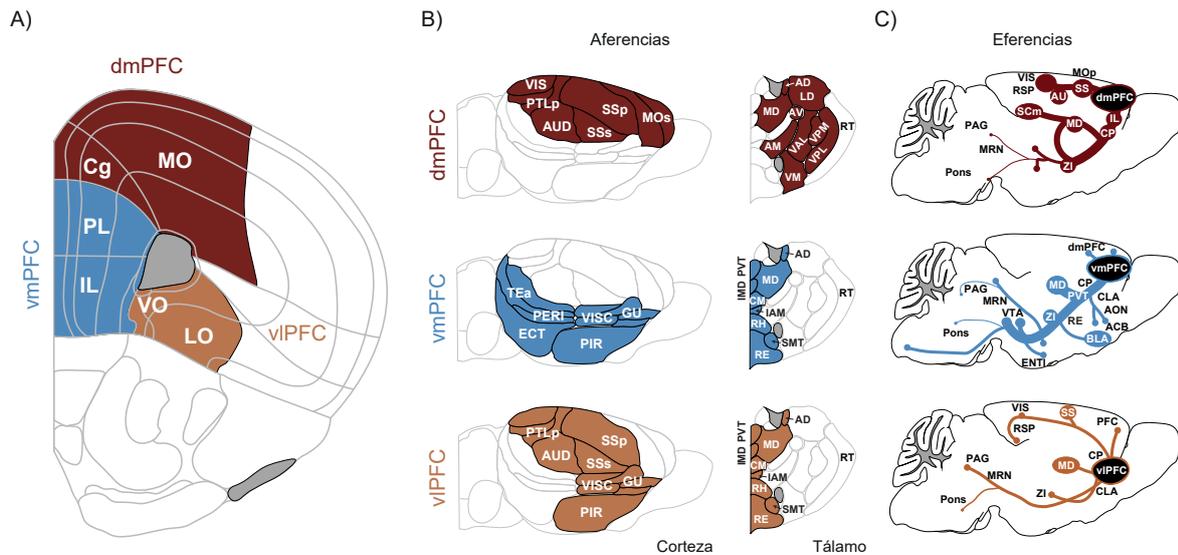


Fig. 1.6: Divisiones anatómicas, aferencias y eferencias de la corteza prefrontal en ratón. A) Divisiones anatómicas de la corteza prefrontal en ratón. La dmPFC, que comprendería las cortezas motoras mediales y las cinguladas; la vlPFC: que comprendería a las divisiones orbitofrontales ventrolaterales y laterales; y vmPFC: que comprendería a IL, PL y la división orbitofrontal lateral. **B)** Aferencias corticales y talámicas y **C)** eferencias de las áreas que componen la corteza prefrontal en ratón. **ACB:** núcleo accumbens; **AD:** núcleo anterodorsal del tálamo; **AM:** núcleo anteromedial del tálamo; **AON:** núcleo olfatorio anterior; **AU:** corteza auditiva; **AUD:** corteza auditiva primaria; **AV:** núcleo anteroventral del tálamo; **BLA:** amígdala basolateral; **Cg:** corteza cingulada; **CLA:** claustrum; **CM:** núcleo central medial del tálamo; **CP:** caudado putamen; **dlPFC:** corteza prefrontal dorsolateral; **ECT:** corteza entorrinal; **ENTI:** área entorrinal lateral; **GUS:** corteza gustativa; **IAM:** núcleo interanteromedial del tálamo; **IL:** corteza infralímbica; **IMD:** núcleo intermediodorsal del tálamo; **LD:** núcleo lateral dorsal; **LO:** corteza orbital lateral; **LP:** núcleo lateral posterior; **MD:** núcleo mediodorsal del tálamo; **MO:** corteza motora; **MOp:** área motora primaria; **MOs:** área motora secundaria; **MRN:** núcleo medial del rafe; **PAG:** sustancia gris periacueductal; **PERI:** corteza peririnal; **PFC:** corteza prefrontal; **PIR:** corteza piriforme; **PL:** corteza prelímbica; **Pons:** puente; **PTLp:** áreas parietales posteriores de asociación; **PVT:** núcleo paraventricular del tálamo; **RE:** núcleo reuniens; **RH:** núcleo romboideo; **RSP:** área restroplénica; **RT:** núcleo reticular del tálamo; **SCm:** colículos superiores; **SMT:** núcleo submedial del tálamo; **SS:** Corteza sensitiva; **SSp:** corteza sensitiva suplementaria; **SSs:** corteza sensitiva primaria; **TEa:** áreas temporales asociativas; **VAL:** complejo central anterolateral del tálamo; **VIS:** áreas visuales; **VISC:** corteza visceral; **vlPFC:** corteza prefrontal ventrolateral; **VM:** núcleo ventromedial del tálamo; **VMP:** núcleo ventral posteromedial del tálamo; **vmPFC:** corteza prefrontal ventromedial; **VO:** corteza orbital ventral; **VPL:** núcleo ventral posterolateral del tálamo; **VTA:** área tegmental ventral; **ZI:** zona incerta. Adaptada de Le Merre et al. (2021).

DBS y, de hecho, así lo demuestra la abundante bibliografía al respecto (para una revisión ver Khairuddin et al., 2020). En algunos de los trabajos se ha evaluado cambios conductuales en animales sin ninguna manipulación (Gersner et al., 2010; Hamani et al., 2010, 2014; Bregman et al., 2015, 2018; Torres-Sanchez et al., 2018) y en otros se ha comprobado en animales previamente sometidos a procedimientos que provocaban sintomatología depresivas (Gersner et al., 2010; Hamani & Nobrega, 2012; Veerakumar et al., 2014; Edemann-Callesen et al., 2015; Lim et al., 2015; Jia et al., 2019; Khairuddin et al., 2020; Z. Sun et al., 2022). Algunos estudios proponen que dentro de estas regiones más ventromediales de la PFC, sería IL la diana específica y efectiva de la DBS (Jiménez-Sánchez et al., 2016; Vila-Merkle et al., 2021, 2023), pero muchos incluyen ambas áreas e, incluso alguno demuestran este efecto estimulando solo PL (Gersner et al., 2010). Quizá estas diferencias tengan que ver con esa diferencia ya comentada sobre la funcionalidad de la parte dorsal y ventral de PL en roedores (Kooy et al., 1982; Saper, 1982; K. Hurley et al., 1991; Hamani & Nobrega, 2012; Laubach et al., 2018) o

con los parámetros de estimulación empleados, que son los que determinan realmente el área estimulada (Hamani & Nobrega, 2012).

En cualquier caso, parece interesantes estudiar la actividad de vmPFC en ratones (Veerakumar et al., 2014; Bregman et al., 2018; Le Merre et al., 2021), así como su relación con el HPC en el contexto de la depresión y los antidepresivos. De hecho, como se dijo anteriormente, se ha visto que la DBS de vmPFC mejora la sintomatología en un modelo de depresión en ratas (Jia et al., 2019) y modifica la coherencia y la actividad neuronal entre esta estructura y el HPC.

Otras estructuras afectadas en la depresión: la amígdala y la habénula lateral

Aunque HPC y PFC están muy implicadas en los trastornos depresivos, y por eso son objeto de estudio de esta Tesis, hay otras áreas también desreguladas en esta patología, como la amígdala y la habénula lateral (LHb).

La amígdala es una estructura compleja, compuesta de diversos núcleos o regiones, y que está involucrada, entre otras funciones, en la respuesta de miedo (Klüver & Bucy, 1937; Izquierdo et al., 2016), las reacciones emocionales del organismo (Gallagher & Chiba, 1996; LeDoux, 2003; Phelps & LeDoux, 2005; LeDoux, 2007) y también en el estrés y su regulación (Daviu et al., 2019).

Las regiones que constituyen la amígdala se organizan en 3 grandes divisiones (**Figura I.7**). Un complejo basolateral que cuenta con una parte dorsal, también denominado amígdala lateral (LA), y una porción basal, o amígdala basal (BA), donde se encontrarían el núcleo basomedial (BMA) y el basolateral (BLA). La segunda de estas partes estaría compuesta por la parte central, la cual es dividida en la porción central (CeA), la medial (CeM) y la lateral (CeL); y la parte medial, formando lo que se conoce como amígdala medial (MeA). Por último, también se contemplaría como parte de la amígdala su parte cortical y la denominada amígdala extendida, formada por zonas laterales y mediales del BNST (McDonald, 1998; McDonald et al., 1999; Alheid, 2003; LeDoux, 2007; Martínez-García et al., 2007; Martínez-García et al., 2012; Benarroch, 2015; Aerts & Seuntjens, 2021; W. H. Zhang et al., 2021).

La amígdala también se encuentra implicada/alterada en la depresión y mucho en procesos de gestión del estrés (Roosendaal et al., 2009; Palazidou, 2012). Seguramente por esta alta implicación en respuesta a los estresores, la mayoría de los estudios se centren en estudiarla mayoritariamente en este tipo de procesos y menos en la depresión (Espinoza Oyarce et al., 2020).

En detalle, esta estructura juega un papel fundamental en las respuestas tanto conductuales como fisiológicas a estresores, a través de proyecciones indirectas (T. S. Gray et al., 1989; Prewitt & Herman, 1998; Herman et al., 2003; Ulrich-Lai & Herman, 2009) sobre el eje HPA. Además, parece ser que distintas regiones de la amígdala responderían a diferentes estresores, estando más implicadas BLA y MeA en la respuesta a estresores psicológicos y CeA a los sistémicos (Prewitt & Herman, 1998; Dayas et al., 2001).

La relación de BLA en la depresión está ampliamente demostrada, debido a su papel principal en la asignación del valor afectivo de estos estímulos (LaLumiere, 2014; Heshmati & Russo, 2015; W. H. Zhang et al., 2021). Esto tiene relación con el hecho de que una de las características principales de la depresión es la hiperactividad amigdalina cuando se le presentan estímulos emocionales negativos (Siegle et al., 2002; Fu et al., 2004). Por el contrario, en pacientes deprimidos y en pacientes que han pasado la enfermedad, se ha observado que la presencia de estímulos positivos produce una activación menor de la amígdala (Surguladze et al., 2005;

Suslow et al., 2010). Ambos hechos coinciden con una de las características más presentes en la patología: un sesgo hacia las emociones negativas y la presencia de rumiación (Gotlib et al., 2004; Murray et al., 2011).

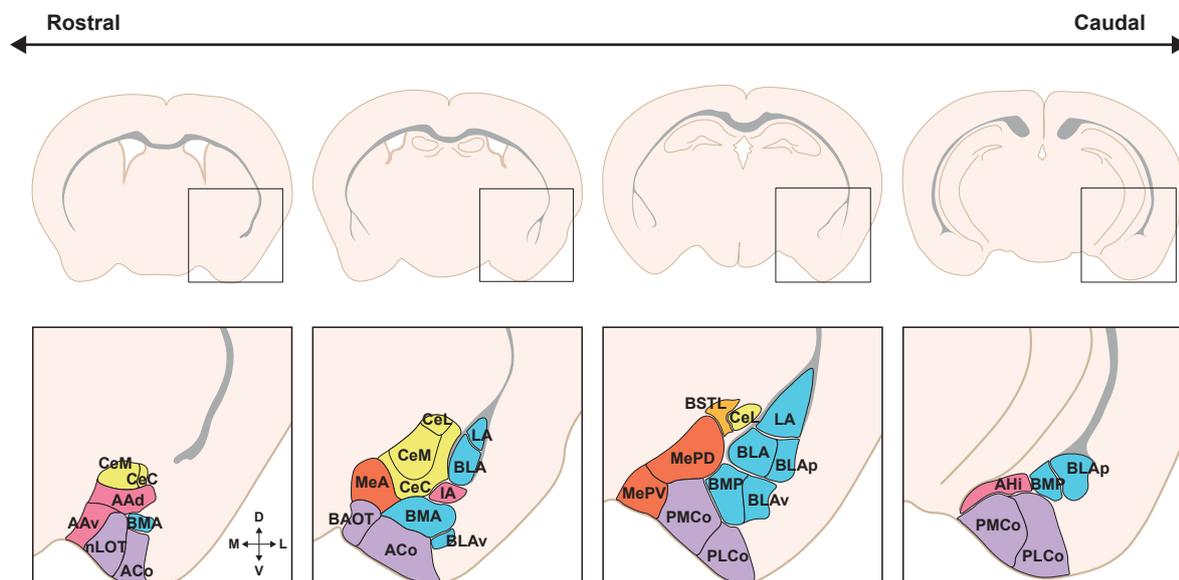


Fig. I.7: Subdivisiones nucleares de la amígdala. La amígdala se suele dividir tradicionalmente en diferentes regiones como son: el complejo basolateral (azul, [que incluiría las subdivisiones: **BLA**: amígdala basolateral; **BLAp**: división posterior de la amígdala basolateral; **BLAv**: división ventral de la amígdala basolateral; **BMA**: parte anterior del núcleo basomedial; **BMP**: núcleo basomedial posterior; y **LA**: amígdala lateral]), la división central (amarilla [que incluiría las subdivisiones: **CeC**: núcleo capsular de la amígdala central; **CeL**: núcleo lateral de la amígdala central; y **CeM**: núcleo medial de la amígdala central]), la medial (roja, [que incluiría las subdivisiones: **MeA**: núcleo anterior de la amígdala medial; **MePD**: núcleo posterodorsal de la amígdala medial; y **MePV**: núcleo posteroventral de la amígdala medial]), la amígdala cortical (violeta, [que incluiría las subdivisiones: **nLOT**: núcleo del tracto olfativo lateral; **ACo**: núcleo cortical anterior; **BAOT**: núcleo del lecho del tracto olfativo accesorio; **PMCo**: núcleo cortical posteromedial; y **PLCo**: núcleo cortical posterolateral]) y la amígdala extendida (naranja, [que incluiría a algunas partes laterales y mediales del **BSNT**: núcleo del lecho de la estria terminal]). En esta imagen también se incluirían las áreas de transición amígdalo-hipocámpicas (rosa, [que incluiría las subdivisiones: **AAd**: núcleo dorsal del área anterior de la amígdala; **AAv**: núcleo ventral del área anterior de la amígdala; **AHi**: área amígdalohipocámpica; y **IA**: masas celulares intercaladas principales]). Adaptada de Aerts & Seuntjens (2021).

Además, en coherencia con estos datos, se ha detectado en depresión una conectividad funcional aberrante entre la región basolateral de la amígdala y la PFC durante el procesamiento emocional (Wackerhagen et al., 2020). Es interesante que tanto esta conectividad aberrante como la hiperactividad amigdalina hacia estímulos negativos, parecen mejorar tras una respuesta sintomática adecuada al tratamiento farmacológico (Hamilton et al., 2008). También se han observados cambios en el volumen de la amígdala en pacientes deprimidos (Roddy et al., 2021), pero estos no llegan a ser concluyentes en muchos estudios (Zavorotnyy et al., 2018) y se cree que estén asociados a cambios dendríticos, no en toda la amígdala, si no en algunos de sus núcleos como CeA y BLA (Vyas et al., 2006; Gonçalves et al., 2008; Roozendaal et al., 2009).

Por otro lado, la LHb ha sido reconocida desde hace tiempo como una región clave en la comunicación del sistema límbico (formado por el hipocampo, la amígdala, el hipotálamo, tálamo y corteza cingulada. Catani et al., 2013) y los sistemas monoaminérgicos como VTA y el RN (Herkenham & Nauta, 1979; Y. Yang et al., 2018). Debido a que está altamente

conectada con la PFC, y a las conexiones que tiene con los núcleos del tronco del encéfalo (**Figura I.8**) se ha propuesto que su actividad también pueda ser un marcador en la depresión (Matsumoto & Hikosaka, 2007; Fan et al., 2022).

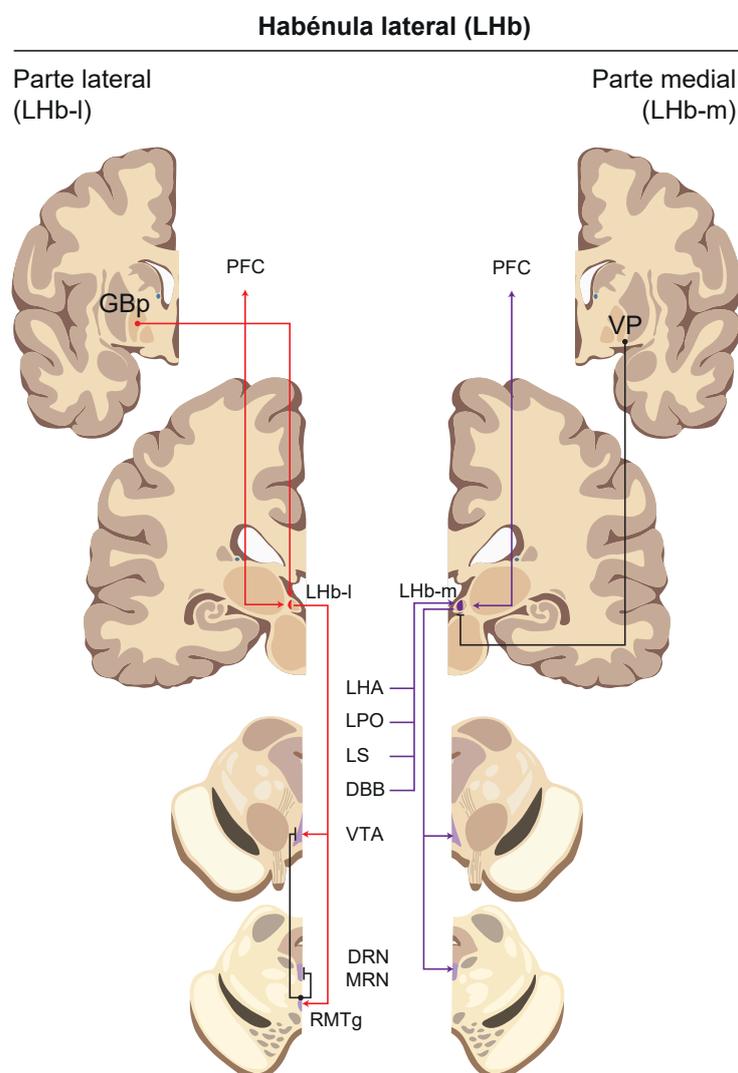


Fig. I.8: Conexiones de la habénula lateral. Los núcleos habenules laterales forman parte del sistema diencefálico dorsal que conectaría la parte anterior del cerebro con el tronco del encéfalo. La división lateral de LHb (LHb-l) recibiría señales excitatorias del GPb y de la PFC y proyectaría sus eferencias hacia núcleos del tronco del encéfalo como el VTA y RMTg. Desde este último se generarán señales inhibitorias hacia DRN, MRN y VTA, de manera que la división LHb-l controlará las áreas del rafe de manera indirecta, mientras ejercerá conexiones directas e indirectas con VTA. La división medial de LHb (LHb-m) recibiría conexiones excitatorias de la PFC, VP, DBB, LHA, LPO, LS e inhibitorias desde VP, y sus proyecciones se dirigirían principalmente hacia los núcleos del rafe, aunque también hacia VTA. **DBB:** Banda diagonal de Broca; **DRN:** núcleo dorsal del rafe; **GPb:** globo pálido; **LHA:** área hipotalámica lateral; **LHb:** habénula lateral [l, parte lateral; m, parte medial]; **LPO:** área preóptica lateral; **LS:** septum lateral; **MRN:** núcleo medial del rafe; **PFC:** corteza prefrontal; **RMTg:** núcleo tegmental rostromedial; **VP:** pálido ventral; **VTA:** área tegmental ventral. Adaptada de Benarroch (2015) y Felten et al. (2016)

Este área participa de la regulación de procesos diversos (Y. Yang et al., 2018), pero hallazgos recientes han revelado un papel especialmente relevante en el procesamiento de la información de carácter negativo en depresión (Matsumoto & Hikosaka, 2007, 2008; Proulx et al., 2014;

Lawson et al., 2016; Webster et al., 2021). Parece ser que LHb se activaría ante estos estímulos negativos (Wirtshafter et al., 1994) y en estos momentos aumentaría la coherencia de su actividad con la de PFC (Y. Huang et al., 2021). Además, se hipotetiza que las conexiones existentes entre la PFC-LHb proporcionarían señales importantes en tareas de recompensas/castigos, proceso que en la depresión parece encontrarse desajustado (Lawson et al., 2014; Vadovičová, 2014; Y. Huang et al., 2021). Por último, este desajuste de actividad en la red podría estar asociado a síntomas depresivos como la anhedonia (K. Li et al., 2013; Vadovičová, 2014; Y. Li et al., 2017). En coherencia con todos estos datos, se ha demostrado que la actividad de la LHb parece mejorar tras el uso de antidepressivos (B. Li et al., 2011; Y. Yang et al., 2018).

Por todo ello, tanto la amígdala como la habénula podrían ser dianas a estudiar en trabajos futuros.

Tratamiento del trastorno depresivo

La estrategia elegida para tratar una depresión depende en gran medida de la gravedad de la patología, siendo el objetivo principal en cualquier caso la remisión completa de los síntomas.

Cuando se trata de un episodio depresivo de carácter temporal, la desaparición de los síntomas puede alcanzarse normalmente mediante el uso de la terapia psicológica, farmacoterapia o la combinación de ambas (Gartlehner et al., 2017; Malhi & Mann, 2018). En el caso de hablar de un trastorno depresivo, ya sea de carácter leve o moderado, el tratamiento psicológico por sí solo también podría ser suficiente, debiéndose ofrecer en primer lugar una terapia basada en la evidencia científica, como la terapia cognitivo conductual o la interpersonal (Cuijpers et al., 2014; Mulder et al., 2017). Sin embargo, en la mayoría de estos casos es probable que se necesite medicación y se prefiere una combinación de ambas estrategias (Malhi & Mann, 2018).

Ante un trastorno depresivo mayor grave, debe considerarse la medicación como tratamiento de primera línea, ya que en estas situaciones los pacientes están demasiado enfermos para dedicarse a la psicoterapia (Weitz et al., 2015). Para aquellos pacientes que no responden a la medicación técnicas como la terapia electroconvulsiva pueden constituir también una buena opción (Malhi & Mann, 2018).

Tratamiento farmacológico actual: el papel de los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina

La mayoría (90 %) de los tratamientos farmacológicos actuales contra la depresión se basan en la utilización de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI), en concreto, en el transportador de serotonina (SERT); es decir, se basan en una única proteína del cerebro (Celada et al., 2004; Artigas, 2013).

La 5-HT, también conocida como 5-hidroxitriptamina (aislada y caracterizada por primera vez por Rapport et al., 1948), es una amina biogénica sintetizada en el sistema nervioso central (SNC) a partir del triptófano (un aminoácido esencial) en dos pasos: la hidroxilación del triptófano a 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a partir de la acción de la enzima triptófano hidroxilasa, y la descarboxilación del 5-HTP para formar la 5-HT (C. T. Clark et al., 1954; Nichols & Nichols, 2008; Pytliak et al., 2011). Las neuronas 5-HT se concentran principalmente en los RN, situados en el tronco del encéfalo (Dahlström & Fuxe, 1964; Celada et al., 2004) y cuentan con neuronas ampliamente arborizadas que llegan a un gran número de regiones (Moore et al., 1978. **Figura I.9A y B**). Su actividad es controlada principalmente por un conjunto de vías

aferentes como son: proyecciones glutamatérgicas desde PFC, inputs noradrenérgicos procedentes de los núcleos pontinos y entradas inhibitorias procedentes de interneuronas GABAérgicas locales (Adell et al., 2002; Celada et al., 2004).

La despolarización de los terminales axónicos de las neuronas serotoninérgicas provoca la entrada de iones de calcio (Ca^{2+}) y la fusión de las vesículas que contienen 5-HT con la membrana celular. Su liberación en la hendidura provocará su unión sus receptores, de los cuales existen 7 familias con diferentes subtipos (5-HT_{1A/B/D/E/F}, 5-HT_{2A/B/C}, 5-HT_{3A/B}, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT₆, y 5-HT₇). Estos receptores pueden estar situados tanto en la membrana postsináptica como en la presináptica y cuando se encuentran en esta última ejercerían de autoreceptores que responden a la 5-HT regulando su la síntesis y su la liberación (Nichols & Nichols, 2008; Pytliak et al., 2011).

El autorreceptor más importante es el 5-HT_{1A} y está situado en áreas somatodendríticas de las células del RN y de las neuronas postsinápticas (**Figura I.9C**) situadas en áreas corticolímbicas, el HPC y la amígdala (Pazos & Palacios, 1985; Sanabria-Bohórquez et al., 2002; N. Santana et al., 2004). Su unión con la 5-HT conduce a la apertura de canales de cloro (Cl^-) en la membrana plasmática, a la hiperpolarización de esta y al cese del disparo celular (Sprouse & Aghajanian, 1987; Araneda & Andrade, 1991; Ashby et al., 1994; Blier & de Montigny, 1994; Celada et al., 2004). Los receptores 5-HT_{1B/D}, situados en las terminaciones nerviosas (**Figura I.9C**), y al igual que los 5-HT_{1A}, también ejercerán su papel regulatorio como autorreceptores (Adell et al., 2001; Celada et al., 2004).

Como se dijo anteriormente, los SSRI actúan sobre el SERT situado en la membrana presináptica, bloqueando su acción. En condiciones normales, el SERT se encargaría de la recaptación de la 5-HT desde la hendidura sináptica hasta el interior de la terminales axónicos de la neurona presináptica donde, la enzima monoamino oxidasa (MAO), sería la responsable de reciclarla (Nichols & Nichols, 2008). De hecho, las concentraciones cerebrales de 5-HT están muy reguladas por esta enzima y algunos estudios parecen confirmar la relación de su desregulación con la patología depresiva, detectándose incrementos durante episodios de la enfermedad (Meyer et al., 2006, 2009). Acorde con esto, algunos polimorfismos que generarían una alta actividad de esta enzima también se han asociado a un mayor riesgo de depresión (Rivera et al., 2009). Es por eso por lo que también se han desarrollado fármacos antidepresivos inhibidores que la modulan su actividad en general, o la de alguna de sus variantes como la MAO-A y B (Fišar, 2016).

Hay que tener presente que, aunque el bloqueo del SERT generará una mayor disponibilidad de la 5-HT, este aumento se verá compensado por una retroalimentación negativa mediada por los receptores 5-HT_{1A}. De hecho, se ha demostrado que una única administración de SSRI es suficiente para provocar un aumento de la concentración extracelular de 5-HT en los RN (Adell & Artigas, 1991; Invernizzi et al., 1992) y que esto conllevará a la disminución del disparo neuronal de las neuronas 5-HT (Quinaux et al., 1982; Blier & de Montigny, 1994; Bétry et al., 2013), reduciéndose así la liberación de 5-HT terminal (Adell & Artigas, 1991; Invernizzi et al., 1992; Artigas et al., 1996; Quentin et al., 2018). En consecuencia, la administración de fármacos SSRI provoca en primer término, el efecto contrario al deseado: limitarían aún más el aumento de la 5-HT (Hervás et al., 2000; Celada et al., 2004).

Por eso existen muchos estudios sobre la importancia de estos receptores en la manifestación y tratamientos de la depresión. Por un lado, los estudios *postmortem* y de neuroimagen de pacientes con depresión mayor sugieren una mayor densidad de autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} (Stockmeier et al., 1998; Boldrini et al., 2008). Además, parece claro que una reduc-

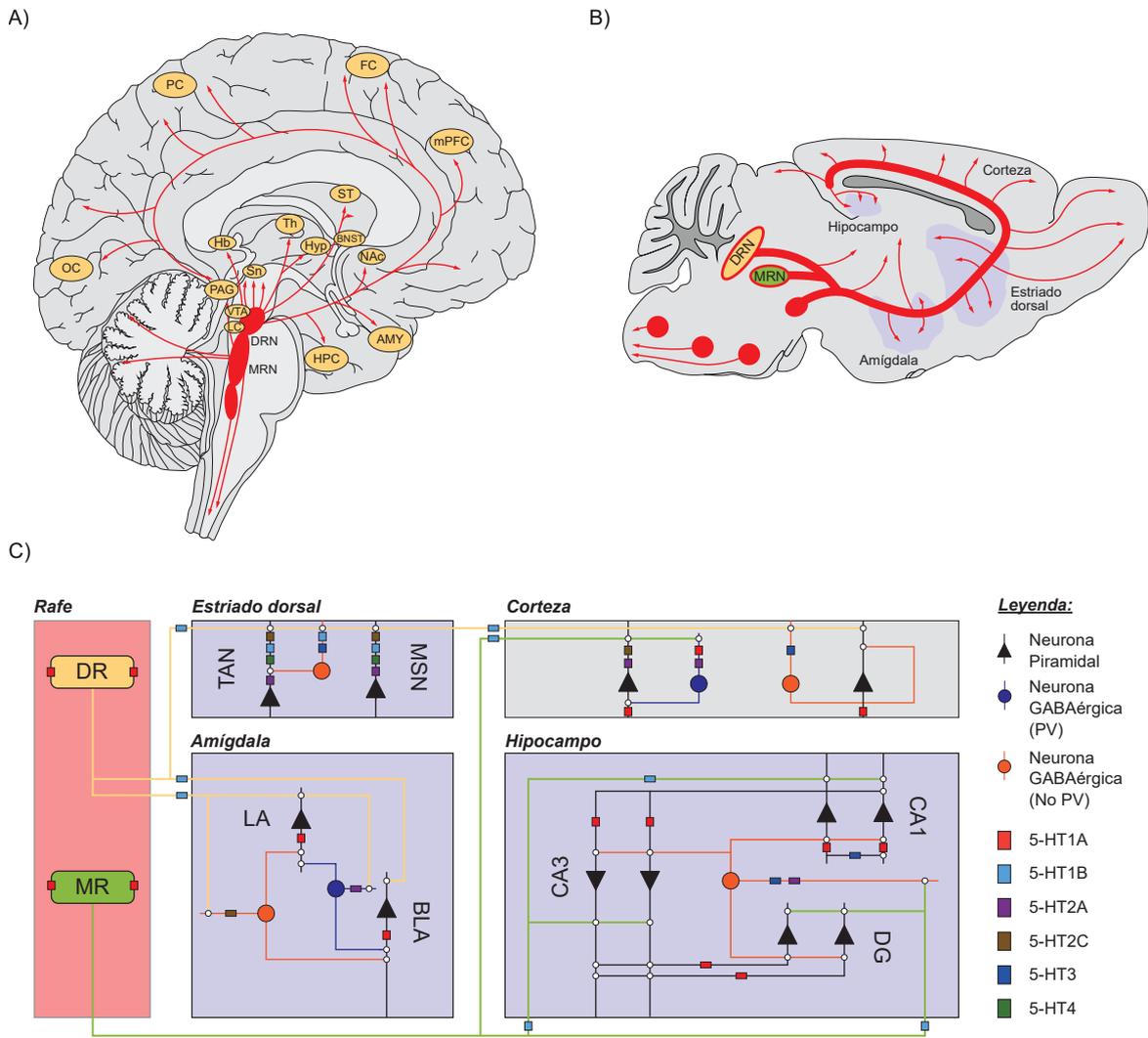


Fig. 1.9: Proyecciones serotoninérgicas y distribución de los receptores 5-HT en el cerebro. A) y B) Aferencias del núcleo dorsal (DRN o DR) y medio (MRN o MR) del rafe en el cerebro humano (A) y de roedores (B). C) Los somas de neuronas serotoninérgicas del DR y MR presentarán receptores 5-HT del tipo A1 que actuarán de autorreceptores. A su vez las neuronas serotoninérgicas del DR proyectarán preferentemente hacia neuronas piramidales y GABAérgicas de los núcleos amigdalinos y del estriado dorsal. Sin embargo, también tendrán conexiones hacia la corteza, las cuales compartirían con el MR. La neuronas del MR proyectarán también hacia CA1, CA3 y DG del hipocampo. En esta figura se puede observar también la ubicación de los receptores serotoninérgicos dendríticos y axonales en cada tipo de neurona. 5-HT: receptores serotoninérgicos; **AMY: amígdala; **BLA**: amígdala basolateral; **BNST**: núcleo del lecho de la estria terminal; **CA1, 2 y 3**: asta de Ammón; **DG**: giro dentado; **FC**: córtex frontal; **HB**: habénula; **HPC**: hipocampo; **Hyp**: hipotálamo; **LA**: amígdala lateral; **LC**: locus coeruleus; **mPFC**: corteza prefrontal medial; **MSN**: neuronas espinosas de tamaño medio; **OC**: córtex occipital; **PAG**: sustancia gris periacueductal; **PC**: córtex parietal; **PV**: neuronas parvalbúmina +; **Sn**: sustancia nigra; **TAN**: neuronas colinérgicas tónicamente activas; **Th**: tálamo; **VTA**: área tegmental ventral. Adaptadas de Lesch & Waider (2012) y Pourhamzeh et al. (2022).**

ción de su expresión genética provocaría una disminución de la retroalimentación negativa en las neuronas serotoninérgicas generando un efecto antidepressivo (Bortolozzi et al., 2011). Sin embargo, no parece existir una reducción en pacientes deprimidos de los receptores 5-HT_{1A} situados en la zonas postsinápticas. Esto implicaría que los cambios en la función serotoninérgica producidos, en parte, por la localización de receptor más que por el subtipo de estos

(Bhagwagar et al., 2004).

Sin embargo, la retroalimentación negativa producida por los receptores 5-HT_{1A} tras los efectos de los SSRI disminuye con el tratamiento prolongado debido a la internalización de estos receptores (Blier & de Montigny, 1994; Hervás et al., 2001; Celada et al., 2004; Artigas, 2013; Quentin et al., 2018), lo que permite que la 5-HT extracelular aumente durante las siguientes semanas de tratamiento, incluso tras la administración única (Bel & Artigas, 1993; Ferrer & Artigas, 1994; Hervás et al., 2001). Este incremento de 5-HT provocaría que, al contrario que los 5-HT_{1A} somatodendríticos, los receptores postsinápticos de las redes corticolímbicas se reforzasen y jugaran un papel fundamental en la acción antidepresiva (Haddjeri et al., 1998; B. L. Jacobs et al., 2000).

Esta diferencia entre los efectos inmediatos y los producidos a largo plazo tras la administración de los SSRI, explicaría la principal desventaja que tienen estos fármacos: la latencia hasta ser efectivos (Celada et al., 2004; Artigas, 2013; Quentin et al., 2018). Es decir, para que su efecto antidepresivo se produzca, se tienen que poner en marcha mecanismos de adaptación neurobiológica secundarios a la activación de la diana farmacológica y esto conlleva un tiempo. Algunos de estos mecanismos abarcan desde cambios presinápticos en la actividad de las neuronas que contienen monoaminas hasta modificaciones postsinápticas en las áreas corticolímbicas, que posiblemente impliquen cambios plásticos y genéticos, que remodelarán la función de los circuitos cerebrales alterados en la depresión mayor (Nestler & Carlezon, 2006).

Por último, pero no menos importante, otra de las desventajas de los SSRI reside en la tasa de respuesta que inducen. A las 6 semanas de tratamiento, solamente un 60 % de los pacientes que los toman logran una reducción del 50 % de la gravedad inicial de los síntomas. En el caso de hablar de remisión de los síntomas, la tasa de efectividad disminuye aún más, pasando a 35-40 % a las 6 semanas. En la mayoría de los pacientes, el tratamiento debe continuar durante años para prevenir recaídas y recidivas (Celada et al., 2004).

Nuevos fármacos antidepresivos basados en la transmisión glutamatérgica

Si tras el uso las vías farmacológica o psicoterapéutica el paciente continúa mostrando sintomatología depresiva, nos encontraríamos ante lo que se denomina un paciente resistente al tratamiento (Bergfeld et al., 2018). Los datos indican que el 44 % de los pacientes no responden a dos terapias antidepresivas consecutivas y que un 33 % no lo hace a más de 4 (Rush et al., 2006). Esto implica, entre otras cosas, un altísimo riesgo de suicidio, ya que aproximadamente el 30 % de los pacientes con depresión resistente al tratamiento intenta suicidarse al menos una vez (Hantouche et al., 2010).

Debido a esto, y a las limitaciones de los SSRI descritas en el apartado anterior, en los últimos años se ha impulsado el desarrollo de nuevas estrategias para tratar la enfermedad, que actuaran sobre otros sistemas más allá del monoaminérgico (Bergfeld et al., 2018). En el año 2000, Berman et al. (2000) mostraron la acción antidepresiva de un fármaco que modificaba la transmisión glutamatérgica, la ketamina, que induciría estas mejoras, además, de manera rápida, en cuestión de horas, y de manera sostenida con un sola administración, hasta una semana después. Este hallazgo, que demostraba un efecto antidepresivo mediante un mecanismo completamente diferente al de los fármacos monoaminérgicos represento el avance más significativo en el tratamiento de la depresión en más de 60 años (L. Li & Vlisides, 2016).

Glutamato: receptores y cinética

Aunque el glutamato fue descubierto en la década de los 50 (Hayashi, 1952), no fue hasta el final de 1970 cuando fue reconocido como el principal neurotransmisor excitatorio del SNC en los vertebrados (Orrego & Villanueva, 1993; Meldrum, 2000). Se trata de un aminoácido no esencial que no es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, por lo que su síntesis se produce en las mitocondrias neuronales, a partir de la glutamina. Posteriormente, es liberado al citoplasma de las neuronas donde se acumula en vesículas sinápticas en los terminales axónicos. La propagación de potencial de acción a través del axón provocará la liberación del glutamato en la hendidura sináptica, a través de mecanismos dependiente de la concentración de calcio, donde interactuará con sus alguno de sus receptores situados en la membrana postsináptica (Birnbauer et al., 1994; Meldrum, 2000).

Los receptores de glutamato se clasifican en dos tipos: los receptores ionotrópicos (iGluR), que incorporan canales iónicos permeables a cationes, es decir, iones con carga eléctrica positiva como son el sodio (Na^+) y Ca^{2+} , y cuya permeabilidad depende del tipo de receptor y de las subunidades que lo formen; y los metabotrópicos (mGluR) formados por cadenas proteicas que atraviesan hasta 7 veces la membrana celular y que funcionan liberando segundos mensajeros, a través de las proteínas G, en el citoplasma o influyendo en los canales iónicos (Conn & Pin, 1997; Meldrum, 2000).

A su vez, los receptores mGluR (**Figura I.10A**) se subdividen en 3 clases, de acuerdo con 3 características: la homología de sus aminoácidos, la respuesta a sus agonistas, (siendo el mGluR7 notablemente insensible) y la vía de señalización de los segundos mensajeros (los de grupo I activan la fosfolipasa C y los grupos II y III están acoplados de manera negativa a la adenil ciclasa). La presencia o ausencia de estas características hace que haya 8 subtipos diferentes de mGluR (del mGluR1 al mGluR8; Flores-Soto et al., 2012; J. H. Kim et al., 2020).

De igual manera, los iGluR también se subdividen en 3 tipos en función de sus agonistas principales: el receptor α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), el receptor NMDA, y el receptor kainato (KA). Todos ellos están formados por un número y tipo diferente de subunidades (pudiendo ser tetraméricos o pentaméricos) y su estructura determinará sus propiedades biofísicas y farmacológicas (Dingledine & Conn, 2000; Flores-Soto et al., 2012). Estos canales pueden estar formados por diferentes combinaciones de las subunidades GluR1, GluR2, GluR3 y GluR4, pero no es necesaria la presencia a la vez de los 4 tipos para formar un canal permeable a Na^+ (Collingridge et al., 2009; Traynelis et al., 2010). La distribución/proporción de estas subunidades es clave para la funcionalidad de los receptores AMPA ya que, por ejemplo, aquellos que no poseen la subunidad GluR2 son altamente permeables a Ca^{2+} . Los NMDA, estarían formados por la combinación de las subunidades GluN1, GluN2 (con 4 subtipos A, B, C y D) y GluN3 (con 2 subtipos A y B). Por último, los receptores KA, estarían compuestos por las subunidades GluR5, GluR6, GluR7, KA1 y KA2 (**Figura I.10A**).

Al llegar a la hendidura sináptica el glutamato se une en primer lugar a los receptores AMPA, ya que estos son los más sensibles de los iGluR, generándose un potencial postsináptico excitatorio (EPSP, del inglés *Excitatory Postsynaptic Potential*) en escalas de tiempo de milisegundos (Meldrum, 2000; Dongen, 2009; Traynelis et al., 2010; Carbone & Plested, 2012; Greger et al., 2017). Estos EPSP pueden llegar a producirse con concentraciones muy bajas del neurotransmisor (100 mmol/L que contiene una sola vesícula). Al igual que los AMPA, los receptores KA, muestran una activación rápida, sin embargo, estos se encargarían de la modulación de las corrientes sinápticas presinápticas y postsinápticas (Traynelis et al., 2010; Zhu & Gouaux, 2017).

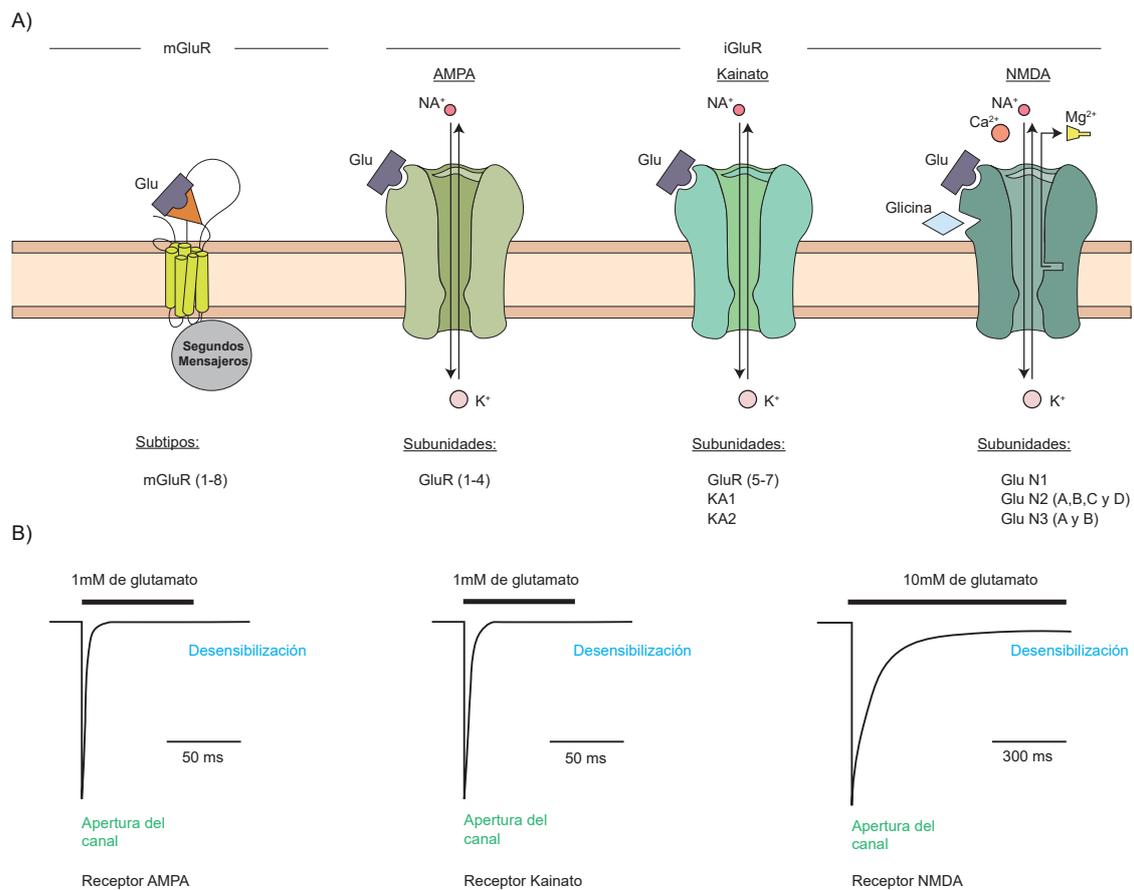


Fig. I.10: Subtipos y cinética de los receptores de glutamato. **A)** Subtipos de los receptores glutamatérgicos junto a su permeabilidad. **B)** Cinética temporal de los receptores ionotrópicos ante distintas concentraciones de glutamato en la hendidura sináptica. Los receptores AMPA y KA se activarían ante una menor concentración de glutamato, a diferencia de los receptores NMDA, los cuales necesitarían más cantidad para hacerlo. Además, tanto los AMPA como los KA, tardarían menos tiempo en desensibilizarse es decir, en disminuir su respuesta, que los NMDA. Adaptada de Sprengel (2013) y Zhu & Gouaux (2017).

A diferencia de estos dos canales, los NMDA no son críticos para conseguir una transmisión sináptica, sino que se encargan de regular cambios funcionales y estructurales de las sinapsis, por ello han recibido especial atención en los procesos de plasticidad neuronal (Dongen, 2009; Vyklicky et al., 2014). En ellos, el flujo de iones está bloqueado por un ion magnesio (Mg^{2+}), debido a las diferencias de concentración entre el Mg^{2+} extracelular (concentración milimolar) y el intracelular (concentración micromolar) por lo que para su activación es necesario que se produzcan dos procesos diferentes. Por un lado, es necesaria la eliminación del ion de Mg^{2+} a través de la despolarización de la membrana. Para que esto ocurra no basta solamente con único evento sináptico, ya que el glutamato liberado en la hendidura sináptica tras la llegada de un potencial de acción, es eliminado rápidamente. Por lo tanto, es necesaria la liberación reiterada de glutamato (a través de sucesivos potenciales de acción) para que se produzca la liberación del ion Mg^{2+} (Monyer et al., 1994; Rothstein et al., 1994; Y. H. Huang & Bergles, 2004; Dongen, 2009).

Además, es necesaria la presencia en el espacio extracelular de glicina y su unión al receptor (no solo la de glutamato) para que el canal se abra y deje entrar iones de Na^+ y Ca^{2+} y que salgan iones de potasio (K^+ ; Adell, 2020). Estos canales están formados siempre por dos unidades de GluN1, donde se unirá la glicina; dos subunidades de GluN2, donde se unirá el glutamato;

y una combinación de subunidades GluN2 y GluN3 (Monyer et al., 1994; Ulbrich & Isacoff, 2008). La presencia de las subunidades GluN2 determinará la duración de los procesos de apertura y desensibilización de estos canales (Adell, 2020), pero en general, debido a lo descrito anteriormente, se producirá una activación significativamente más lenta en estos receptores que los AMPA y los KI (**Figura I.10B**).

El papel dual de la ketamina en la transmisión glutamatérgica y su efecto antidepresivo

La ketamina es una molécula de estructura racémica formada por dos enantiómeros: (*S*) - ketamina y (*R*) - ketamina (Adams et al., 1978). Fue sintetizada por primera vez en 1962 con el fin de encontrar a una alternativa anestésica a la fenciclidina (PCP), pero sin sus efectos secundarios psicomiméticos (Domino & Warner, 2010; Das, 2020). No fue hasta 1965 cuando se comprobaron sus efectos analgésicos y anestésicos (Domino et al., 1965), sin embargo, aún conservaba parte del efecto disociativo, aunque menor que el producido por el PCP (Corsen & Domino, 1966; Das, 2020). Finalmente, en 1970, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*) aprobó su utilización como fármaco anestésico (Das, 2020; Wei et al., 2020) y finalmente, en 2019 se aprobó el uso de la (*S*) - ketamina como antidepresivo (Wei et al., 2020).

En cuanto a las propiedades farmacocinéticas de la ketamina, cabe destacar su alta eficacia y rapidez tras su unión a los NMDA (<1 min. Quibell et al., 2011; Peltoniemi et al., 2016). Además, es una molécula lipofílica que atraviesa rápidamente la barrera hematoencefálica y se distribuye rápidamente en el cerebro, con una semivida de entre 7-11 minutos y una concentración máxima $1743 \pm 560,6$ y $1886 \pm 459,6$ ng/g alcanzada a los 10 minutos de la administración (Das, 2020). Se metaboliza en el hígado, produciendo norketamina, la cual tiene entre un tercio y una quinta parte de potencia que la ketamina (Mion & Villeveille, 2013; Dinis-Oliveira, 2017) y también puede metabolizarse, aunque con menos probabilidad (5%), en hidroxiketamina (Noppers et al., 2011. **Figura I.11**).

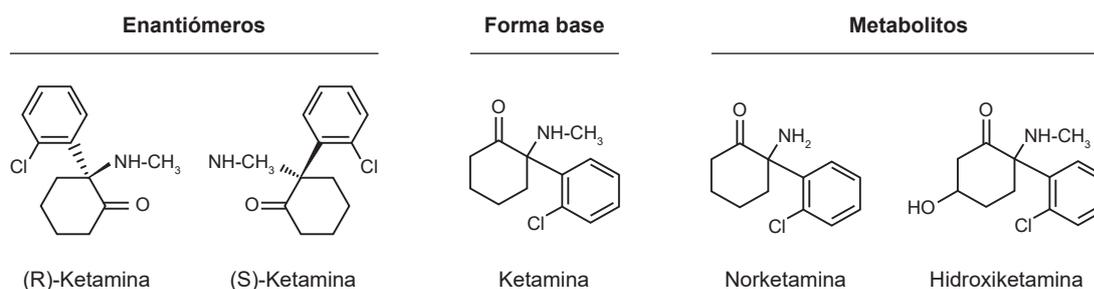


Fig. I.11: Formas moleculares de la ketamina, sus enantiómeros y sus metabolitos.

En el cerebro, la ketamina actúa como un antagonista no competitivo del receptor NMDA, propiedad que comparte con el PCP y el MK-801, siendo este último un compuesto utilizado para generar modelos de esquizofrenia en roedores (Woodruff et al., 1987; Zukin & Javitt, 1989; Y. Yang et al., 2018; Adell, 2020). Al unirse al receptor NMDA bloquearía el canal, con un 86% de probabilidad e impediría la entrada de iones Ca^{2+} y Na^{+} tras la despolarización de la membrana y la eliminación del ion de Mg^{2+} (Zanos et al., 2018). Debido a su acción, se esperaría que este fármaco redujese la neurotransmisión glutamatérgica excitatoria a través de

la inhibición de estos receptores, sin embargo, se ha demostrado lo que ocurre es lo contrario, ya que en zonas como la corteza prefrontal la ketamina provoca un aumento de la actividad glutamatérgica de las neuronas piramidales (Breier et al., 1997).

Hay que tener presente que las neuronas GABAérgicas proyectan sobre las neuronas piramidales, inhibiendo, así, su disparo (McBain & Fisahn, 2001). Este proceso se da a través de dos mecanismos. El primero de estos se debe a las conexiones recíprocas que se existen entre los dos tipos de neuronas. El axón de las neuronas piramidales proyectaría sobre las GABAérgicas, provocando que, tras el disparo de la primera, la segunda se activase. A su vez, la GABAérgica también proyectaría su axón sobre la piramidal inhibiendo a esta y limitando el disparo sostenido en el tiempo de la neurona piramidal. El segundo de estos mecanismos se realiza por inputs distantes que activarían a las neuronas GABAérgicas haciendo que estas limitaran la excitación sináptica de las piramidales incluso cuando estas no disparan (Spruston, 2008).

Como se dijo anteriormente, aunque se esperaría que se redujera la transmisión glutamatérgica, la ketamina aumentaría este tipo de neurotransmisión. Este hecho, se debe principalmente a la preferencia de la ketamina por los receptores NMDA expresados en las interneuronas GABAérgicas (Zanos & Gould, 2018; Zanos et al., 2018). Esto se debe a que las neuronas GABAérgicas tienen una mayor frecuencia de disparo que las piramidales (Neske et al., 2015) lo que implica una mayor posibilidad de que los receptores NMDA se encuentren libres del ion Mg^{2+} en estas células, y, en consecuencia, la ketamina pueda unirse a ellos. Esto daría lugar a una inhibición de estas neuronas, lo que llevará a una desinhibición de las piramidales, liberándose así una gran cantidad de glutamato en la hendidura sináptica (Lener et al., 2017; Zanos & Gould, 2018; Zanos et al., 2018; Jelen & Stone, 2021).

El efecto antidepresivo de la ketamina ha sido ampliamente demostrado, tanto en animales como en humanos (Berman et al., 2000; Murrough et al., 2013; Wei et al., 2020). Se ha visto que la duración de sus efectos oscila entre 3 y 14 días (Singh et al., 2016) y una única administración es suficiente para mejorar los síntomas de manera rápida (Berman et al., 2000; Murrough et al., 2013; Grunebaum et al., 2018; Phillips et al., 2019; Popova et al., 2019), siendo especialmente eficaz contra los síntomas de ideación suicida (Price et al., 2009) y anhedonia (Lally et al., 2014). Además, se ha demostrado eficaz incluso en pacientes refractarios al tratamiento de SSRI (Lapidus et al., 2014; Singh et al., 2016).

Sin embargo, el tratamiento con ketamina no está exento de complicaciones. La primera de estos es la presencia de un efecto no deseado importante, que es el estado disociativo que se origina tras la administración (Krystal et al., 1994; Murrough et al., 2013). La segunda limitación en cuanto a su uso, es la dificultad para establecer la dosis a utilizar, precisamente para evitar este efecto disociativo. Actualmente no existe un consenso claro entre los investigadores y, tanto en animales como en humanos, se suelen usar diferentes dosis que oscilan entre los 2.5 y 75 mg/kg en roedores y los 0.2 y 2 mg/kg en humanos (Berman et al., 2000; J. Liu et al., 2006; C. T. Li et al., 2016; Polis et al., 2019; Fava et al., 2020). Además, en resultados previos del grupo hemos probado diferentes concentraciones de dosis en roedores dentro del rango empleado en la bibliografía y hemos observado que las dosis que se utilizarán en esta Tesis Doctoral (5 y 30 mg/kg) producían efectos de diferente tipo y magnitud.

Con el fin de eliminar los efectos no deseados, se han probado los distintos compuestos que la forman, como son los enantiómeros (*R*) - ketamina y (*S*) - ketamina y metabolitos de la norketamina como la hidroxinorketamina (HNK) y en sus formas (*2R,6R*) - HNK o (*2S,6S*) - HNK, derivadas ambas de los enantiómeros (*S*) y (*R*). Los dos enantiómeros parecen tener efectos antidepresivos, sin embargo, la (*S*) - ketamina muestra una afinidad de unión al receptor

NMDA cuatro veces mayor que la (*R*) - ketamina (Ebert et al., 1997) y, además, en humanos el enantiómero (*S*) es más potente como anestésico/analgésico que el (*R*) (P. F. White et al., 1980). Sin embargo, el problema de esta mayor afinidad y potencia del enantiómero (*S*) es que también produce un efecto psicótico mayor que el (*R*) (Vollenweider et al., 1997).

A pesar de todo lo expuesto, dado que se entiende que el antagonismo del receptor NMDA desempeña un papel clave en el efecto antidepresivo, la compañía Janssen Research & Development[®] comenzó los ensayos clínicos de la (*S*) - ketamina intranasal, demostrando que es más efectiva en sujetos con depresión que los tratamientos antidepresivos orales existentes y que el placebo (Canuso et al., 2018; Daly et al., 2019; Popova et al., 2019; Jelen & Stone, 2021). Como era de esperar, los pacientes sufrieron síntomas disociativos que mejoraron en el mismo día y la presencia de estos disminuyeron en las siguientes administraciones (Wei et al., 2020). En relación con la (*R*) - ketamina, hallazgos preclínicos sugieren que puede producir efectos antidepresivos más potentes, menos efectos secundarios y menor adicción que la ketamina y la (*S*) - ketamina en roedores (C. Yang et al., 2015; Zanos et al., 2016; Fukumoto et al., 2017; Chang et al., 2019; Wei et al., 2020; Leal et al., 2021). Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios que comparen directamente la eficacia de ambos enantiómeros en humanos y solo uno (Leal et al., 2021) en pacientes con depresión.

Al igual que con los enantiómeros, los metabolitos (*2R,6R*) - HNK o (*2S,6S*) - HNK parecen ser capaces de ejercer efectos antidepresivos en roedores (Zanos et al., 2016; Fukumoto et al., 2017; Pham et al., 2017; Zanos & Gould, 2018), siendo los del (*2R,6R*) - HNK superiores y más duraderos que los del (*2S,6S*) - HNK y el MK-801 (Zanos et al., 2016). El estudio de Zanos et al. (2016) demostró también que el metabolismo de la ketamina a ambos compuestos es necesario para su acción antidepresiva en roedores y que los efectos antidepresivos eran independientes a cualquier acción de los receptores NMDA. Trabajos posteriores parecen poner de manifiesto que, en este caso, los receptores mGlu2 presinápticos jugarían un papel importante en el efecto antidepresivo (Zanos et al., 2019). Sin embargo, algunos grupos no han conseguido replicar estos efectos (Shirayama & Hashimoto, 2018; K. Zhang et al., 2018; Xiong et al., 2019; Jelen & Stone, 2021).

En conclusión, aún es necesario conocer más sobre el mecanismo de acción de este fármaco para poder ajustar las dosis a aquellas que induzcan el mayor efecto antidepresivo dando lugar a los menores efectos indeseados. Además, en trabajos previos de nuestro grupo hemos analizado posibles diferencias sobre la actividad cerebral de dosis con un conocido efecto antidepresivo, pero de rango muy distinto, alrededor de 5 mg/kg y 30 mg/kg, y hemos visto que ambas producen cambios en distintas variables electrofisiológicas de manera característica. Es decir, que, a pesar de ser ambas antidepresivas, claramente no generan los mismos efectos sobre el cerebro, lo cual podría correlacionar con la magnitud de los efectos secundarios de naturaleza psicótica.

La función plástica de los receptores glutamatérgicos

Es sabido que la liberación de glutamato puede provocar cambios en la sinapsis a través de los procesos de plasticidad cerebral, como la potenciación a corto plazo (STP, del inglés *Short Term Potentiation*), la potenciación a largo plazo (LTP, del inglés *Long Term Potentiation*) y la depresión a largo plazo (LTD, del inglés *Long Term Depression*). El inicio estos procesos requiere de la activación de los receptores ionotrópicos siendo los más importantes los AMPA y NMDA (Rao & Finkbeiner, 2007). En primer lugar, la STP se refiere a cambios que duran desde varios milisegundos a varios minutos y que desempeñan un papel importante en las

adaptaciones sensoriales del organismo o memoria de corta duración. Este tipo de plasticidad suele desencadenarse a través de ráfagas cortas de potenciales de acción que inducen una acumulación de calcio en los terminales presinápticos lo que a su vez inducirá un aumento de la probabilidad de exocitosis de vesículas sinápticas que contienen neurotransmisores (Citri & Malenka, 2007. **Figura I.12A**).

Sin embargo, si la estimulación aplicada es continua o tetánica (100 Hz en un segundo. Dunwiddie & Lynch, 1979), la neurona provocará una liberación continua de glutamato, con la consecuente despolarización de la membrana, la eliminación del Mg^{2+} de los canales NMDA y la entrada de Ca^{2+} dentro de la espina dendrítica de la neurona, iniciándose así el mecanismo, en este caso, de LTP (**Figura I.12B**). La entrada de Ca^{2+} provocará la fosforilación, y con ello, la activación de la proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina II (CaMKII, del inglés *Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II*. Lisman et al., 2012) la cual, se mantendrá activa incluso cuando los niveles de Ca^{2+} hayan vuelto al estado de reposo (Koninck & Schulman, 1998).

Tras esto, comenzará una cascada de eventos bioquímicos que conducen al reclutamiento de nuevos canales AMPA que se encuentran en endosomas de reciclaje contenidos en las dendritas o en regiones extrasinápticas (M. Park et al., 2004; H. Makino & Malinow, 2009) y a la mejora de la conductancia de los receptores AMPA ya existentes (Shi et al., 1999). Se genera, así, lo que se conoce como LTP temprano (Baltaci et al., 2018). Los nuevos AMPA, procedentes de las vesículas, no se insertarán directamente en la densidad postsináptica, si no que serán excitados en sitios perisinápticos y colocados en su lugar por las proteínas guanilato quinasas asociadas a membranas (MAGUK, de inglés *Membrane-Associated Guanylate Kinases*). Entre ellas, la que más atención ha recibido es PSD-95 debido a su importancia en el control de número de receptores AMPA (Ehrlich & Malinow, 2004; Citri & Malenka, 2007; Ehrlich et al., 2007; H. Makino & Malinow, 2009). Por otra parte, el aumento de la conductancia de los receptores AMPA ya existentes es debido a fosforilación de la cola C los GluR1 situada en el dominio terminal de estos (Kristensen et al., 2011. **Figura I.12B**).

Si la estimulación es continuada, se producirá lo que se conoce como LTP tardío (**Figura I.12C**), que implicará cambios en la expresión génica, la síntesis de nuevas proteínas, cambios estructurales y formación de nuevas sinapsis (Bosch & Hayashi, 2012; Baltaci et al., 2018). La activación de la CaMKII también provocará la activación de la adenil ciclasa (Elliot et al., 1989) generando adenosín monofosfato cíclico (AMPC), el cual se unirá a la proteína quinasa A (PKA) liberando las subunidades catalíticas de esta, que se desplazarán hacia el núcleo y fosforilarán al factor de transcripción CREB (del inglés, *cAMP responsive element binding protein*). De este modo, se iniciará la transcripción de genes relacionados implicados en el LTP tardío (Nguyen & Woo, 2003; Baltaci et al., 2018).

Otra de las proteínas implicadas en este proceso, más concretamente en la regulación de la plasticidad sináptica y la síntesis de proteínas, es BDNF (Hartmann et al., 2001; H. Park & Poo, 2012). BDNF se encuentra tanto en la región presináptica como en la postsináptica de las sinapsis glutamatérgicas y actúa a través del receptor de tirosina quinasa B (TrkB, del inglés *Tropomyosin related kinase B*. Hartmann et al., 2001). Estos receptores, activarán la vía fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) – proteína quinasa B (Akt) – diana de rapamicina en células de mamífero 1 (mTOR1), lo que provocará la regulación del proceso de plasticidad (Jaworski et al., 2005. **Figura I.12C**).

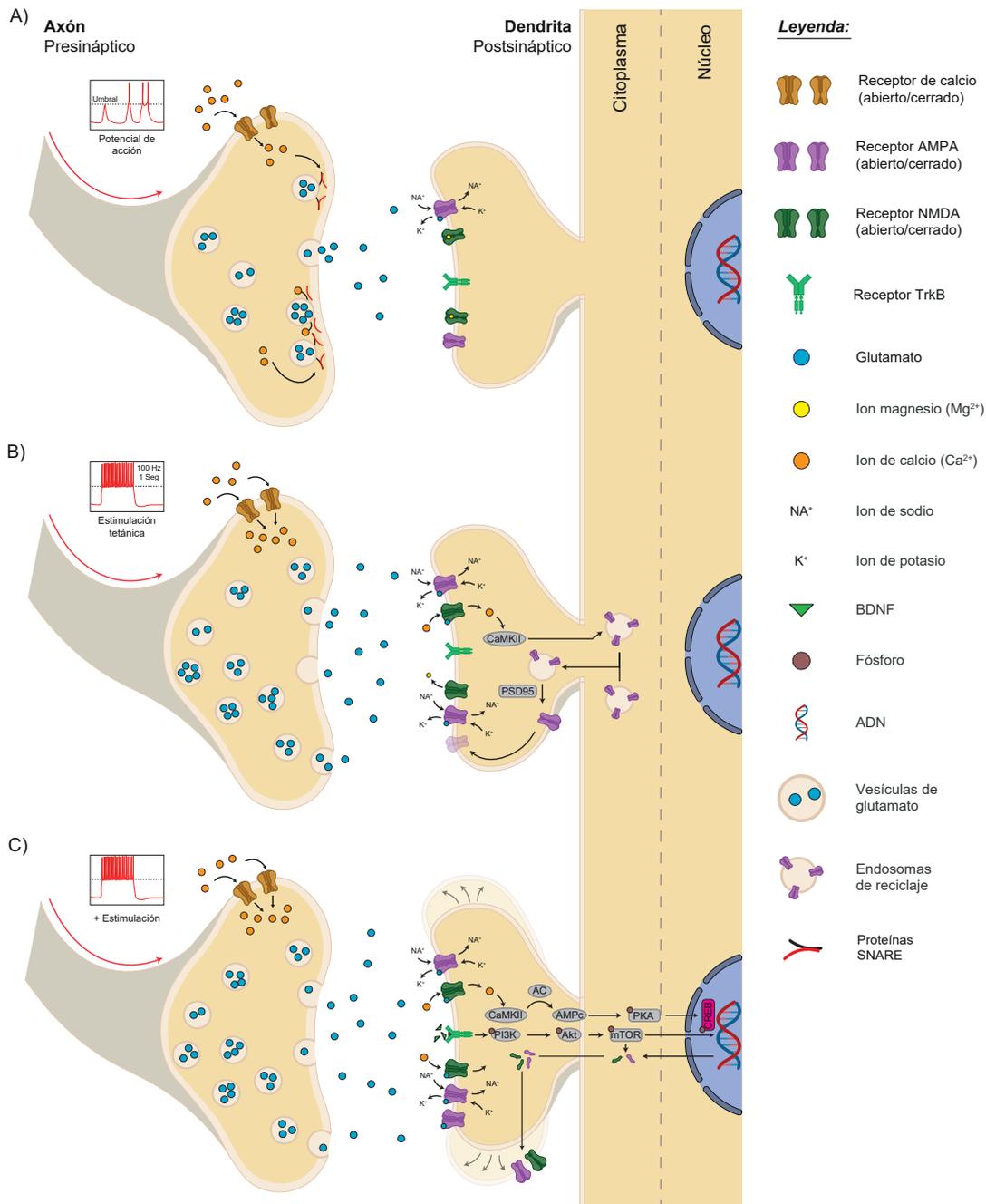


Fig. I.12: Procesos de plasticidad sináptica: STP, LTP temprana y LTP tardía. **A)** STP. La estimulación repetida de ráfagas cortas de potenciales de acción inducirá una acumulación de Ca^{2+} en los terminales postsinápticos lo que provocará un aumento de la probabilidad en la liberación de neurotransmisores. **B)** LTP temprano. Este tipo de potenciación suele durar entre varios milisegundos a varios minutos. La estimulación continuada o tetánica provocará una liberación superior de glutamato en la hendidura sináptica, permitiendo la eliminación del ion Mg^{2+} de los receptores NMDA y permitiendo la entrada de Ca^{2+} a la parte postsináptica de la sinapsis. La entrada de Ca^{2+} actuará como segundo mensajero provocando cambios celulares que culminarán con el reclutamiento de nuevos receptores AMPA. **C)** LTP tardío. Si la estimulación tetánica es continuada se producirán cambios celulares que implicarán la expresión génica, la síntesis de nuevas proteínas; y cambios estructurales, como la formación de nuevas sinapsis y el crecimiento de las ya existentes.

Pero ¿qué ocurre cuando la estimulación es detenida o regresa a los niveles iniciales? Pueden darse dos procesos: el primero de ellos es el mantenimiento de la sinapsis gracias a una iso-

forma de la proteína quinasa C (PKC) que activa a la $PMK\zeta$ impidiendo la endocitosis de los receptores AMPA y la difusión lateral hacia el espacio extrasináptico. La inhibición de esta proteína eliminaría el LTP en unos cuantos días e incluso, se correlacionaría con la eliminación de la memoria (Sacktor, 2008, 2010; Lisman et al., 2012. **Figura I.13A**).

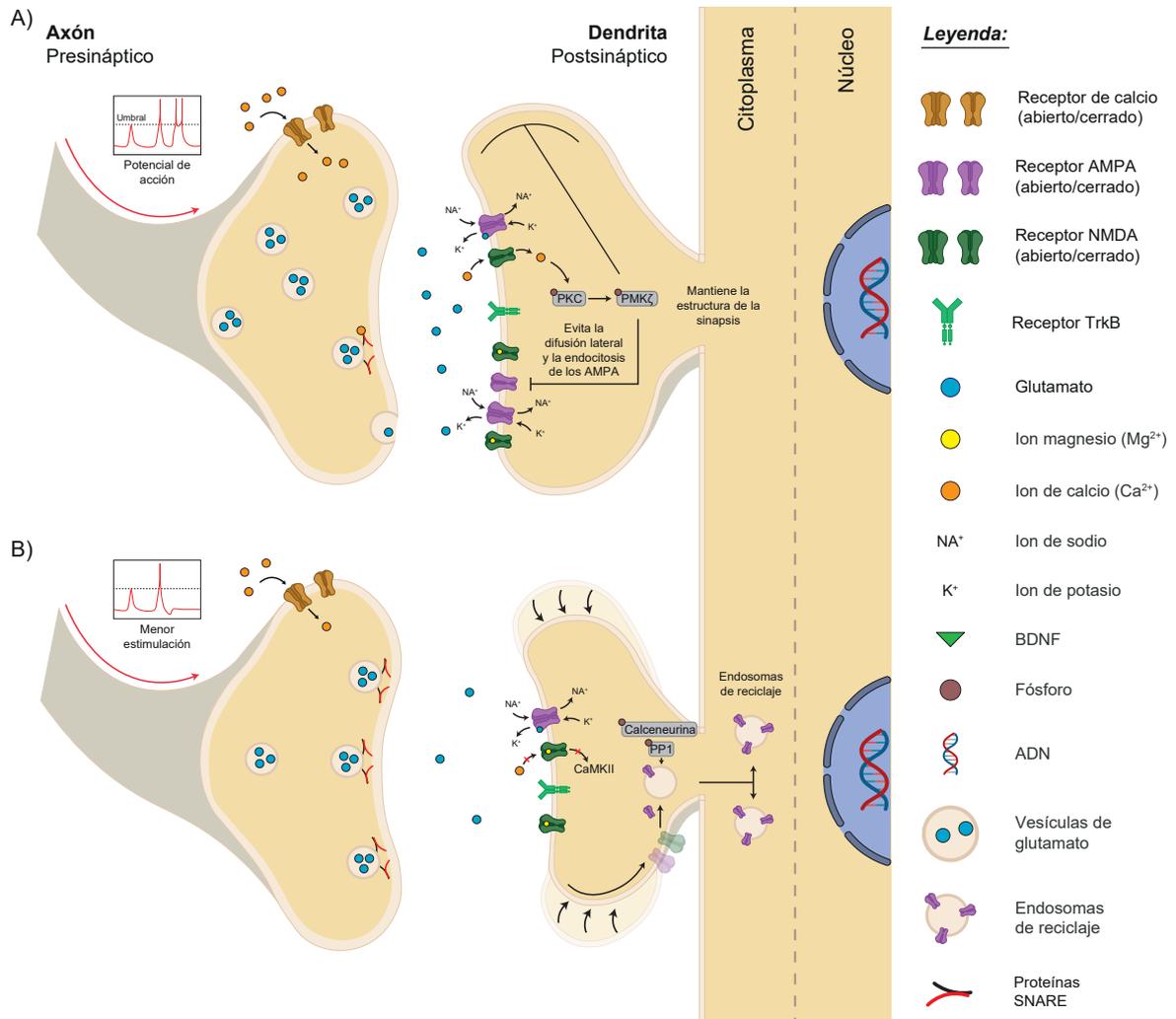


Fig. I.13: Procesos de plasticidad sináptica: mantenimiento de la sinapsis y LTD. **A)** Mantenimiento de la sinapsis. En ocasiones, tras el fin de la estimulación, proteínas como la PKC impedirían la endocitosis de los receptores AMPA, manteniendo la sinapsis potenciada. **B)** LTD. Sin embargo, también puede ocurrir el proceso inverso, que la sinapsis vuelva a su estado anterior debido a las bajas concentraciones de Ca^{2+} . En este caso, los receptores AMPA reclutados en las fases de LTP se desplazarán de nuevo a las zonas periféricas donde serán nuevamente endocitados.

La segunda posibilidad es lo que se conoce como LTD (**Figura I.13B**), que consiste una pérdida de los receptores AMPA. En este caso, debido a una baja frecuencia de disparo prolongada y repetitiva de la neurona presináptica (Mulkey & Malenka, 1992) el Ca^{2+} que entrará en la dendrita, debido a una menor activación de los NMDA, no será suficiente para la activar las CaMKII. En este escenario se activarán las proteínas fosfatasas, como la calcineurina y la proteína fosfatasa 1 (PP1. Lisman, 1989; Morishita et al., 2001), y se producirá también la

desfosforilación de la PKA y PKC (Lee et al., 2000). Estos cambios generarán la rotura de los anclajes que mantienen unidos los receptores AMPA y su posterior desplazamiento hacia la zona periféricas donde serán endocitados, provocando a su vez, la disminución de la espina dendrítica (Malinow & Malenka, 2003; Nägerl et al., 2004; Citri & Malenka, 2007).

La influencia de la ketamina en los procesos de plasticidad

Como se explicó en el apartado anterior, la ketamina también provoca una liberación de glutamato debido a la inhibición de las neuronas GABAérgicas y la consecuente desinhibición de las neuronas piramidales. Tras la administración de este compuesto, parecen existir cambios plásticos en la sinapsis que tendrían implicación en el efecto antidepressivo (Orser et al., 1997; Autry et al., 2011; Pryazhnikov et al., 2018). Sin embargo, en este caso los canales NMDA están bloqueados debido al efecto antagonista del fármaco, por lo que los cambios plásticos producidos han tratado de explicarse a través de varias hipótesis.

La primera de ellas explica que, al igual que en los proceso de LTP tardío, BDNF jugaría un papel importante y principal en el efecto plástico-antidepressivo. En concreto, el aumento de la actividad de los receptores AMPA provocará a su vez la activación de los canales de calcio activados por voltaje (VGCC, del inglés *Voltage Gated Calcium Channels*) lo que inducirá un aumento de los niveles de calcio intracelular aumentando así los niveles de BDNF rápidamente (30 min), en la sinapsis (Monteggia et al., 2013; Lepack et al., 2016; Zanos & Gould, 2018; R. S. Duman et al., 2021). La unión de BDNF a TrkB aumentará la actividad de dos cascadas intracelulares independientes: la de Akt y la de las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK, del inglés *Extracellular signal-Regulated Kinase*. Lepack et al., 2016). La actividad de ERK también puede aumentar directamente por la activación de los receptores AMPA ya que al producirse esta, aumentaría la actividad a una proteína de la familia de las GTPasas (guaninas trifosforadas) denominada Ras lo que, en último término, aumentaría los niveles de ERK (Qin et al., 2005; Y. Gu & Stornetta, 2007).

Ambas moléculas, Akt y ERK, incrementarían la actividad de mTOR1, el cual iniciará los procesos de traducción de proteínas sinápticas como sinapsina I, subunidades GluA1 de los receptores AMPA y PSD-95. Todo esto generaría un reclutamiento de nuevos receptores AMPA en la zona postsináptica (N. Li et al., 2010; Zanos & Gould, 2018; Corrigan & Pickering, 2019; Pochwat et al., 2019) e, incluso, la creación de nuevas espinas dendríticas (Pryazhnikov et al., 2018). Se ha demostrado, que la activación de estas moléculas nombradas en este párrafo (N. Li et al., 2010, 2011; Szewczyk et al., 2015), junto a la activación de los receptores AMPA (Koike et al., 2011; Koike & Chaki, 2014; Zanos et al., 2016) es completamente necesaria para que se produzcan los efecto antidepressivos de la ketamina.

La segunda de las hipótesis se centra en el papel del bloqueo de los receptores NMDA (Pochwat et al., 2019). Como se dijo en el anteriormente, para que la ketamina bloquee los receptores, es necesario que estos estén libres del ion de Mg^{2+} por lo que debe ocurrir la despolarización de la membrana a través de un potencial de acción. Este proceso también es conocido como neurotransmisión evocada (Suzuki & Monteggia, 2020).

Sin embargo, existen algunos receptores NMDA que se activan ante lo que se conoce como transmisión espontánea (Sutton et al., 2006; Suzuki & Monteggia, 2020). A diferencia de la evocada, esta es producida de manera independiente a los potenciales de acción y se da como resultado de la fusión entre una vesícula sináptica y la membrana presináptica generándose lo que se conoce como, corrientes postsinápticas en miniatura (mEPSC, del inglés *miniature Excitatory Postsynaptic*). Estas corrientes se producen debido a la cinética de estos canales;

en concreto, en condiciones basales el bloqueo de Mg^{2+} es incompleto, lo que permitiría la entrada de Ca^{2+} y que la ketamina se una a estos receptores interfiriendo en vías de señalización celular como la de la quinasa del factor de elongación eucariota 2 (eEF2K, del inglés *eukaryotic Elongation Factor-2 Kinase*. Espinosa & Kavalali, 2009; Autry et al., 2011; Kavalali et al., 2011; Gideons et al., 2014; Kavalali & Monteggia, 2015; Suzuki et al., 2017; Suzuki & Monteggia, 2020. **Figura I.14**).

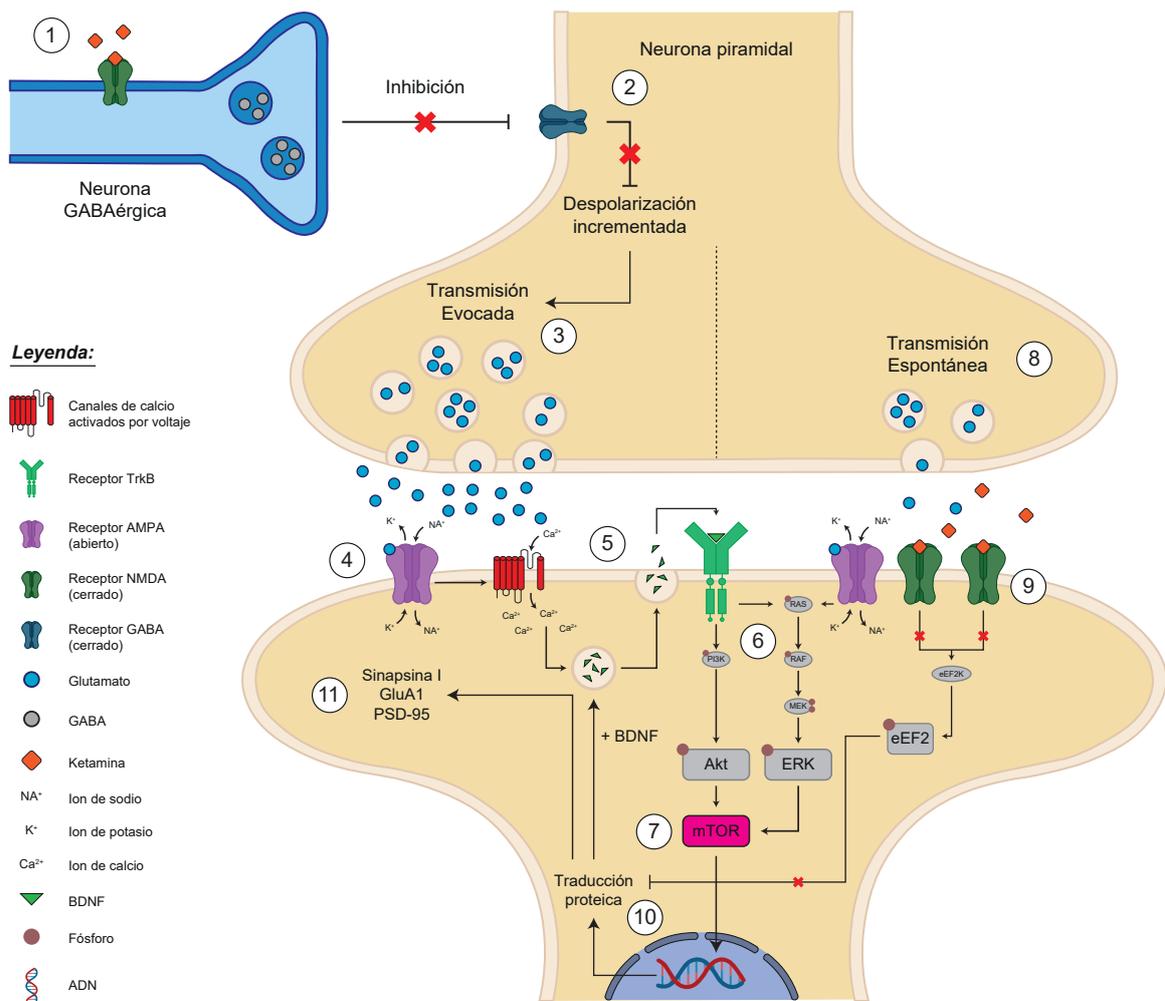


Fig. I.14: Mecanismos de plasticidad sináptica originados por la ketamina. La preferencia de la ketamina por el bloqueo de los receptores NMDA de las interneuronas GABAérgicas (1) provocará un aumento de la despolarización de las neuronas piramidales, que liberarán una gran cantidad de glutamato a la hendidura sináptica (2 y 3). Este glutamato se unirá a los receptores AMPA (4) incrementando la activación de los canales de calcio activados por voltaje (5), lo que aumentará los niveles de BDNF (5) provocando la activación de cascadas proteicas implicadas en procesos de plasticidad sináptica (6 y 7). A su vez el bloqueo de los receptores NMDA postsinápticos evitará la activación de proteínas como eEF2 que bloquearían los mecanismos de traducción de proteínas (8 y 9). Por lo tanto, la activación de los receptores AMPA y el bloqueo de NMDA culminarán en un incremento de la traducción proteica (10) de proteínas implicadas en los procesos de plasticidad sináptica (11. Adaptada de Zanos et al., 2018).

Estudios recientes señalan que la eEF2K está implicada en los procesos de homeostasis sináptica

que juegan un papel crucial en la estabilidad de la excitabilidad neuronal y la actividad de la red (Kavalali et al., 2011; Kavalali & Monteggia, 2015). eEF2K pertenece al grupo de quinasas atípicas que, a diferencia del grupo de quinasas típicas (CaMKs, del inglés *Calcium/calmodulin-dependent protein Kinases*. Kenney et al., 2014), se activaría ante bajas concentraciones de CA^{2+} , como las producidas por la activación espontánea de los receptores NMDA. La activación de eEF2K produciría a su vez la fosforilación del factor de elongación eucariota 2 (eEF2, del inglés *eukaryotic Elongation Factor 2*) el cual, en situaciones normales, se encargaría de impedir la traducción de algunas proteínas como por ejemplo BDNF (Taha et al., 2013; Pochwat et al., 2019; Suzuki & Monteggia, 2020). Aunque este fenómeno no está totalmente claro, diversos experimentos confirman la relación entre el bloqueo de los canales NMDA y la disminución de la cascada eEF2K/ eEF2 (Autry et al., 2011; Nosyreva et al., 2013; Gideons et al., 2014; Castrén & Monteggia, 2021) siendo este un paso importante en la aparición del efecto antidepresivo y el aumento de la plasticidad sináptica producida por la ketamina (**Figura I.14**).

Diversos estudios han revelado a través de técnicas de imagen in vivo, cómo la microscopia de 2 fotones, el aumento de espinas dendríticas tras una única administración de ketamina (Phoumthipphavong et al., 2016; Z. Zhang et al., 2020), incluso el rescate de espinas dendríticas que se habían perdido tras la exposición crónica a estrés. Esto se produce en parte, gracias al aumento de moléculas relacionadas con los procesos descritos anteriormente (Moda-Sava et al., 2019).

Por último, parece ser que la ketamina también tendría un papel en la transmisión serotoninérgica. Varios estudios sugieren que el aumento de los niveles de 5-HT son necesarios para que se produzcan los efectos antidepresivos de la ketamina en roedores. Estudios como los Fukumoto et al. (2014), du Jardin et al. (2016) y Pham et al. (2017), demostraron que los tratamientos farmacológicos que reducen la 5-HT en el cerebro de roedores eliminaban los efectos antidepresivos de la ketamina en pruebas conductuales. Además, los niveles más altos de 5-HT se correlacionaron de manera positiva en este tipo de pruebas (Pham et al., 2017).

Sin embargo, la relación entre la ketamina y el aumento de la 5-HT aún no está clara. No se conoce si los efectos sobre los niveles de 5-HT que se observan al administrar ketamina se deben a una acción directa de esta sobre los receptores de 5-HT o sobre el sistema serotoninérgico (Zanos et al., 2018). Algunos autores encontraron que al igual que los SSRI, la ketamina bloquearía los SERT in vitro aumentando los niveles de 5-HT (Owens et al., 2001; Y. Zhao & Sun, 2008). Sin embargo, también se ha demostrado una compleja regulación entre las neuronas 5-HT del DR por parte de neuronas aferentes de la mPFC. De esta manera, la estimulación de las neuronas de mPFC producida por la ketamina podría provocar también la liberación de 5-HT (Celada et al., 2001; Pham et al., 2017).

Sin embargo, aunque no se conocen del todo los mecanismos por los que la ketamina tiene este alto potencial antidepresivo, debido a la rapidez con que ejerce este efecto, así como por su eficacia en pacientes resistentes a otros tratamientos, sigue siendo una esperanza como nueva terapia.

El concepto de biomarcador y su importancia en el contexto de la depresión y las terapias antidepresivas

El término biomarcador hace referencia a características del organismo que pueden medirse y evaluarse de forma objetiva, proporcionando información sobre procesos biológicos normales, patológicos o respuestas a un tratamiento. (Biomarkers Definitions Working Group, 2001; Caruncho & Rivera-Baltanás, 2010; Kadriu et al., 2020). Su investigación es fundamental para

el desarrollo de fármacos y dispositivos médicos, y como su propia definición refleja, para el diagnóstico de enfermedades o la respuesta a sus tratamientos (Robb et al., 2016). Para algunas enfermedades neurológicas se han definido ya biomarcadores, como los niveles de β -amiloide en la enfermedad de Alzheimer (Mantzavinos & Alexiou, 2017), la pérdida de olfato, los temblores en reposo y la síntesis de DA en el Parkinson (Lotankar et al., 2017); o los aglomerados de proteína α -sinucleína en la demencia producida por cuerpos de Lewy (A. M. Sanford, 2018).

La diversidad de la respuesta a los antidepressivos que manifiestan los pacientes, junto a la heterogeneidad en cuanto a etiología y manifestaciones clínicas de la propia patología, revierten en que las directrices para el tratamiento y el diagnóstico de la depresión mayor sigan siendo generales e inespecíficas. Por ello, las perspectivas más recientes animan a la búsqueda de predictores empíricamente validados, es decir, de biomarcadores de la respuesta a las intervenciones terapéuticas (Lopez et al., 2018). Además, idealmente, para el diseño de los abordajes terapéuticos, se deberían tener en cuenta las características individuales de los pacientes. Por ello, la identificación también de biomarcadores de la patología, con el fin de establecer diagnósticos más acertados, podría constituir el establecimiento de dianas terapéuticas que permitiría una medicina personalizada en la que se adapten individualmente las intervenciones. Además, todo esto puede favorecer la creación de nuevas vías y enfoques terapéuticos en general (Lopez et al., 2018).

El papel de la electrofisiología en la búsqueda de biomarcadores de depresión y del efecto antidepressivo

En los últimos años, el interés en la búsqueda de biomarcadores en relación con la depresión, tanto de la patología como de sus terapias, ha crecido mucho. Inicialmente, la investigación de marcadores de la depresión se centraba en el nivel de concentración de neurotransmisores, sus metabolitos o precursores. Posteriormente la atención se desplazó hacia los sistemas receptores de estos neurotransmisores. Sin embargo, desde los años 90, el interés se centró en los procesos intracelulares; los cambios relacionados con el curso de la enfermedad y el tratamiento psicofarmacológico; y, más recientemente, en el procesamiento de la información entre circuitos y redes cerebrales específicas (Castrén, 2005; Fišar & Raboch, 2008; Caruncho & Rivera-Baltanás, 2010; Leistedt & Linkowski, 2013) a través, entre otros mecanismos, de las oscilaciones cerebrales (Başar & Güntekin, 2008).

Las oscilaciones cerebrales

Las neuronas se comunican entre ellas mediante señales eléctricas o químicas, que provocan cambios en las concentraciones iónicas entre su medio intracelular y del extracelular (Carter & Shieh, 2015; Hahn et al., 2018; Raghavan et al., 2019). Estos cambios de concentración generan una señal eléctrica, o potencial de acción, que se iniciará en el cono axónico, recorrerá todo el axón y finalmente llegará a los terminales axónicos. Su llegada iniciará una serie de mecanismos que permitirán la comunicación entre cada neurona y sus eferencias (Carter & Shieh, 2015; Raghavan et al., 2019). La electrofisiología comprende aquellas técnicas que permiten captar estas señales midiendo la actividad eléctrica, lo que permite descifrar los mensajes extracelulares e intracelulares (Carter & Shieh, 2015). Así, esta técnica o herramienta, aplicada en el contexto de la neurociencia explora la actividad eléctrica de las neuronas e investiga los procesos celulares y moleculares que gobiernan sobre su señalización.

El inicio de esta rama de la neurociencia se remonta a finales del siglo XVIII en Italia, cuando Luigi Galvani descubrió que los músculos de las ranas muertas eran capaces de contraerse

cuando se aplicaba una descarga eléctrica en los nervios (Piccolino, 1998). Sin embargo, no es hasta 1840 cuando du Bois-Reymond demostró la naturaleza de eléctrica de las señales nerviosas y años después Julius Bernstein, uno de sus alumnos, consiguió registrar el curso temporal exacto de la actividad eléctrica (Seyfarth, 2006; Finkelstein, 2015). Ya en 1900 se formularon las primeras teorías sobre el potencial de acción y años más tarde, Curtis & Cole (1942) fueron capaces de medir el potencial de acción completo en el axón gigante del calamar (Hodgkin & Huxley, 1952; Rubaiy, 2017).

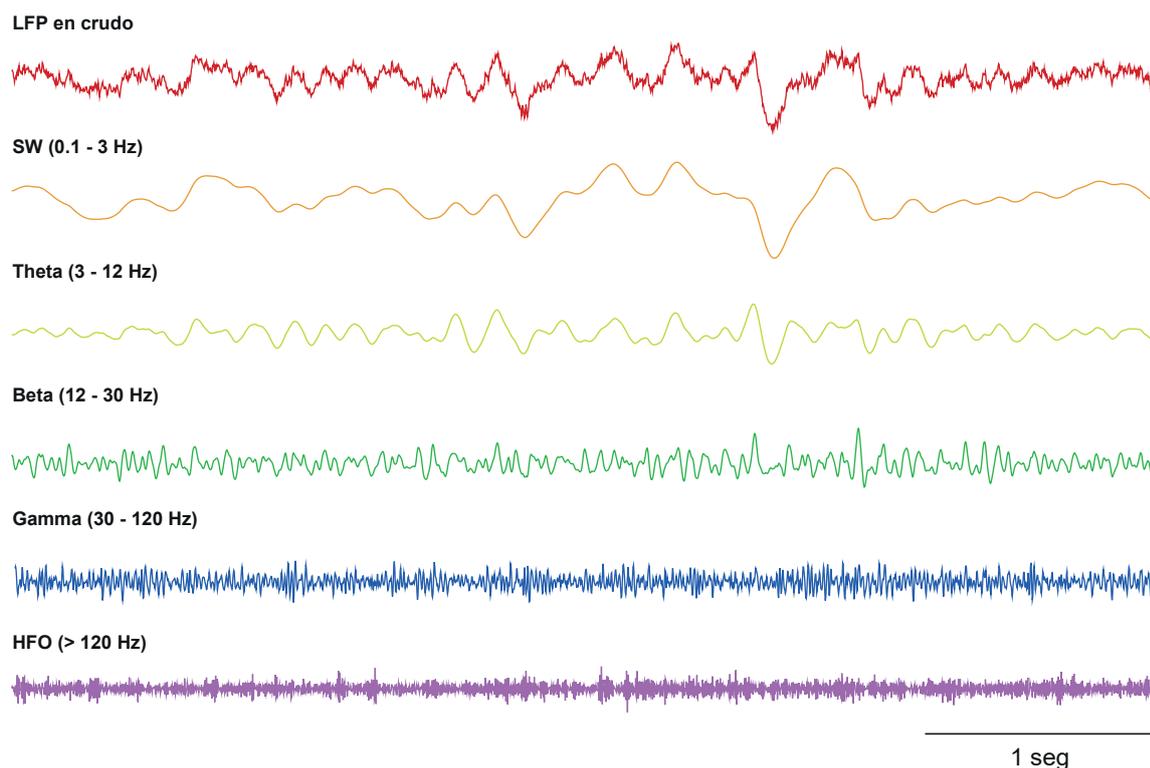


Fig. I.15: Representación de las oscilaciones cerebrales que componen un LFP. Las oscilaciones representadas en colores son el resultado de la descomposición del LFP (rojo) representado en la primera línea.

Como se dijo anteriormente, la electrofisiología comprende un conjunto de técnicas que permiten medir las contribuciones eléctricas de las neuronas activas dentro del tejido cerebral (Carter & Shieh, 2015). Estas contribuciones se superponen en un lugar determinado del medio extracelular y general un potencial o V_e (medido en voltios). La diferencia de un V_e entre dos localizaciones da lugar a lo que se conoce como un campo eléctrico. Los campos eléctricos pueden ser monitorizados con una resolución de milisegundos por electrodos colocados en el cerebro obteniendo lo que se conoce como potenciales de campo local o LFP (del inglés *Local Field Potentials*). Así mismo, los LFPs son el reflejo de la actividad poblacional de una estructura y permitirán interpretar aspectos de la comunicación entre poblaciones neuronales o estructuras (Buzsáki, 2006; Buzsáki et al., 2012. **Figura I.15**). Cualquier membrana excitable y cualquier tipo de corriente transmembrana contribuyen al LFP medible. La palabra “campo” del LFP hace referencia a la superposición de todos los procesos iónicos de un punto determinado del espacio, desde los potenciales de acción hasta las fluctuaciones de la glía, que darán lugar a ese LFP medible por el electrodo. Sin embargo, aunque comúnmente se piensa que los electrodos utilizados para captar la señal LFP captan principalmente la señal de la estructura

en cuestión, esto dista mucho de ser la realidad. La mayor parte de la señal que se obtiene es producida por las aferencias que recibe la estructura en cuestión (Herrerias et al., 2015) debido principalmente a que los generadores de LFP locales son muy débiles (Martín-Vázquez et al., 2013; Herrerias, 2016).

Algunas de las características de la forma del LFP, como son la amplitud y la frecuencia (medida en Hz) dependerán de las múltiples fuentes captadas, la actividad cerebral concreta en el momento del registro y de las propiedades del tejido cerebral (Buzsáki et al., 2012). Además, los LFP, pueden descomponerse a su vez en oscilaciones cerebrales (**Figura I.15**). Éstas son el reflejo de la actividad coordinada de una población neuronal, de la sincronización de los potenciales de acción de las neuronas de esa población, que se integran espacial y temporalmente (Buzsáki, 2006).

Así mismo, las oscilaciones poseen un conjunto de características que las define y que pueden utilizarse para describirlas. Estas propiedades se encuentran descritas en la **Figura I.16**.

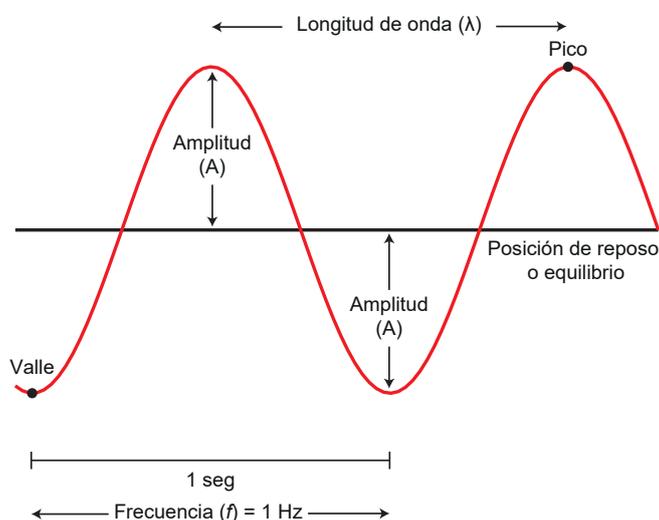


Fig. I.16: Propiedades de una oscilación. Las oscilaciones están compuestas por una serie de parámetros entre los que encontramos: la posición de reposo o equilibrio de la oscilación (línea central) y los puntos más alejados de esta línea se conocen como pico (punto más alto) y valle (punto más bajo). La amplitud (A) es la distancia existente entre la posición en reposo y el pico o el valle. La longitud de onda (λ) hace referencia a la distancia física entre dos puntos a partir de los cuales la onda se repite. Por último, la frecuencia (f), medida en Hz, se definiría como la suma de las longitudes de ondas completas que pasan por un punto en un tiempo determinado. Estas dos últimas características se encuentran inversamente relacionadas, es decir, a mayor frecuencia menor es la longitud de onda y viceversa. Adaptada de Edwards (2003).

Por último, dependiendo principalmente de la frecuencia las oscilaciones pueden clasificarse en oscilaciones lentas (SW, 0.1-1 Hz; Delta, 1-3 Hz; Theta, 3-12 Hz; y Beta, 12-30 Hz), siendo además estas oscilaciones características del reclutamiento de un gran número de neuronas; o rápidas (oscilaciones gamma, > 30 Hz. **Figura I.15**). Estas últimas, a diferencia de las oscilaciones lentas implicarían la participación de un número reducido de neuronas (Buzsáki & Watson, 2012).

Las oscilaciones cerebrales como biomarcadores de procesos cognitivos

Actualmente existe un corpus significativo de conocimiento que avalan que las oscilaciones cerebrales pueden plantearse como biomarcadores tanto de procesos cerebrales como de estados patológicos.

Una de las oscilaciones más conocidas es la oscilación theta (4-8 Hz en humanos y 3-12 Hz en roedores. Başar et al., 2000; Buzsáki, 2002; J. Jacobs, 2014), de la que es conocido su papel central en los circuitos del hipocampo (O'Keefe, 1993; Buzsáki, 2002; Buzsáki & Moser, 2013; Colgin, 2013) y como organizador en general dentro del sistema límbico, especialmente en contextos de interacciones entre este sistema y la corteza cerebral (Lubenov & Siapas, 2009; Smart et al., 2015). Además, las ondas theta están implicadas en procesar información de diversas modalidades, como sensorial/perceptiva (incluida la exploración; Başar & Özesmi, 1972; Başar et al., 1975), y atencionales (Adey et al., 1960; Posner & Rothbart, 2006) y también motora (Vanderwolf, 1969).

La oscilación theta puede ser registrada en el hipocampo en procesos de navegación espacial (junto a las oscilaciones gamma, Buzsáki & Moser, 2013) y como sustrato de la memoria episódica (O'Keefe & Recce, 1993; Klimesch et al., 1994; Yamaguchi, 2003; Vertes, 2005). Su importancia en la memoria ha quedado demostrada a través de distintos tipos de estudios, entre ellos los estudios de lesión; se ha visto que las lesiones hipocampales y, por tanto, la supresión de esta oscilación genera déficits en el aprendizaje, la memoria espacial y la no espacial (Mizumori et al., 1990; Herweg et al., 2020).

Tradicionalmente, en los roedores, se han definido dos subtipos de esta oscilación atendiendo a sus características, a la dependencia de cada subtipo a la acetilcolina (Z. Gu & Yakel, 2022) y a su papel en diferentes procesos (Kramis et al., 1975; Karakaş, 2020): el tipo I (con frecuencias superiores a 6-7 Hz), propio de estados de activos del animal, como las respuestas voluntarias o de locomoción (Vanderwolf, 1969); y el tipo II (por debajo de 6 Hz), característico de estados de inactividad, como estados de alerta sin movimiento (*freezing*), la preparación del movimiento y el sueño (Whishaw & Vanderwolf, 1973; Sainsbury et al., 1987; Karakaş, 2020).

Otras oscilaciones altamente descritas en relación con los procesos de memoria son las ondas lentas (SW, <1Hz. Steriade, Contreras et al., 1993), las *spindles* (10-16 Hz. Steriade, McCormick & Sejnowski, 1993; Antony et al., 2019; Schneider et al., 2020) y las *ripples* (110-180 Hz. Steriade & Timofeev, 2003; Born, 2010; Antony et al., 2019; Klinzing et al., 2019; Girardeau & Lopes-Dos-Santos, 2021; A. A. Liu et al., 2022). La asociación entre estas 3 oscilaciones ocurre durante los periodos de sueño, propiciando la consolidación en la memoria de los acontecimientos relevantes ocurridos durante la vigilia (Born, 2010; Klinzing et al., 2019; Girardeau & Lopes-Dos-Santos, 2021).

Para que estas oscilaciones constituyan efectivamente sustrato electrofisiológico de proceso de memoria, es necesario que las más rápidas se encuentren en momentos concretos de la fase de las más lentas, es decir, que se produzca un acoplamiento fase-amplitud entre ellas (PAC, del inglés *Phase-Amplitude Coupling*. **Figura I.17**). De hecho, de manera general, cuando existen varias oscilaciones de manera simultánea, la fase del ritmo más lento puede modular la potencia de los ritmos más rápidos (Buzsáki & Draguhn, 2004; Buzsáki, 2006; Buzsáki & Watson, 2012), siendo este acoplamiento tanto más elevado cuanto mayor es la amplitud de las oscilaciones más rápidas en momentos concretos de la fase de la oscilación lenta (Siems & Siegel, 2020).

Por último, las SW, tras su generación por la corteza (capas 2/3 y 5. Massimini et al., 2004; Wierzynski et al., 2009; Nir et al., 2011; Klinzing et al., 2019, también participarían en dar

lugar a la sincronía en la actividad de amplias regiones cerebrales, corticales y subcorticales (Steriade, Contreras et al., 1993; Steriade, McCormick & Sejnowski, 1993; Anacleit & Fuller, 2017), organizando su actividad neuronal (Steriade, 2006; Schwartz & Kilduff, 2015).

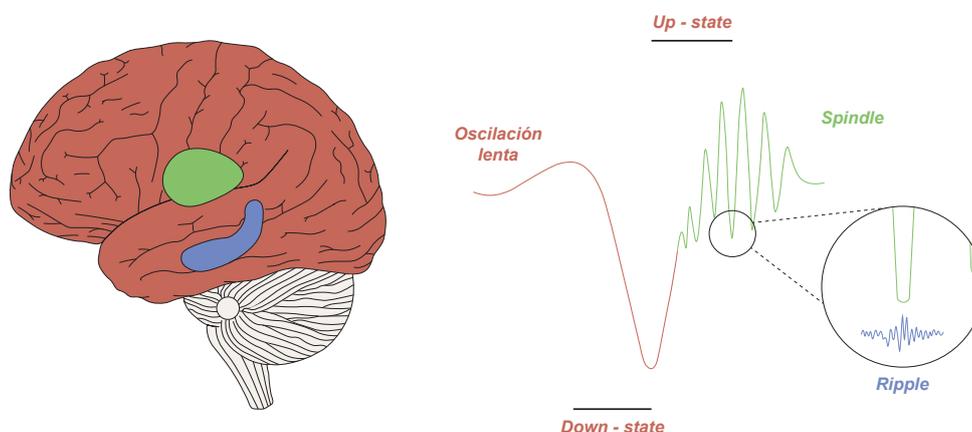


Fig. I.17: Proceso de acoplamiento fase-amplitud entre las SW, las *spindles* y las *ripples* en el hipocampo. Para que se produzca la consolidación de la memoria durante el sueño las oscilaciones deben sincronizarse de una manera concreta, y para ello deben tener valores elevados de acoplamiento fase-amplitud. En este proceso la *spindles* talámicas (verde) tendrá sus máximos de amplitud durante los *up-state* de la oscilación lenta, generadas por la corteza (rojo). A su vez, en los valles de las *spindles* se darán los máximos de amplitud de las *ripples* hipocámpicas (azul). Adaptada de Klinzing et al. (2019).

Las oscilaciones cerebrales como biomarcadores de patología

En los últimos años se han descrito también biomarcadores electrofisiológicos de patologías del sistema nervioso. El ejemplo más conocido es el de la enfermedad de Parkinson; los pacientes de este trastorno manifiestan una potencia exagerada de ondas beta (15-30 Hz), tanto en la corteza motora como en los ganglios basales (Levy et al., 2000; Weinberger et al., 2006; Asadi et al., 2022). Además, también se han descrito patrones oscilatorios alterados en otras patologías neurodegenerativas como el Alzheimer (Jafari et al., 2020), y en algunas de tipo psiquiátrico, como la esquizofrenia (Lewis et al., 2005; Uhlhaas & Singer, 2006; Buzsáki & Wang, 2012) o el trastorno bipolar (Lipsman et al., 2014).

En lo que a la depresión se refiere, también se han propuestos algunos patrones eléctricos que podrían ser interpretados como biomarcadores de la enfermedad. Ya en 1993, se sugirió que la asimetría alfa en reposo predeciría las respuestas afectivas a los estímulos (Wheeler et al., 1993). Posteriormente se han detectado asimetrías interhemisféricas de la actividad alfa prefrontal (8-12 Hz en humanos) en personas que presentan síntomas depresivos, concretamente un aumento de este ritmo en la parte prefrontal izquierda y una disminución en la parte derecha (Neuper & Pfurtscheller, 2001; Saletu et al., 2010; Jaworska et al., 2012; Smart et al., 2015). De hecho, parece que el aumento del alfa frontal izquierdo estaría asociado a una mayor gravedad de los síntomas (Davidson & Slagter, 2000; Bruder et al., 2001; Saletu et al., 2010) y que esta asimetría podría ser un biomarcador del riesgo a manifestar depresión, incluso fuera de episodios de la enfermedad (Debener et al., 2000).

Por otro lado, estudios como el de Neumann et al. (2014) aportan evidencias de cambios en las oscilaciones alfa en la corteza cingulada anterior subgenual (ACCsg del inglés *Subgenual anterior cingulate cortex*. Análoga a IL en roedores) y zonas subcorticales, como el núcleo

accumbens (Jaworska et al., 2016). Aprovechando los registros obtenidos por los electrodos implantados para la técnica de DBS, estos autores encontraron que en pacientes con depresión existía una desregulación del ritmo alfa en estas áreas. Sin embargo, estas diferencias fueron comparadas con sujetos con trastorno obsesivo compulsivo y no con pacientes control, por lo que sería necesario su comparación con sujetos sanos para ver si esas diferencias son específicas del trastorno depresivo.

Los ritmos theta constituyen otro posible marcador en la depresión. Alteraciones en estas oscilaciones en relación con patologías depresivas se han observado en la parte rostral de ACC (ACCr), que es un área fundamental en la neurobiología de esta enfermedad (Hunter et al., 2013). Sin embargo, las anomalías encontradas en estos rangos de frecuencias muestran resultados dispares (Fernández-Palleiro et al., 2019). Por una parte, la mayoría de los estudios indican que la depresión se asociaría con un aumento de la actividad de la banda theta en este área. (Mayberg et al., 1999; Knott et al., 2000; Coutin-Churchman & Moreno, 2008; Pizzagalli, 2010; Köhler et al., 2011; Fernández-Palleiro et al., 2019). Por la otra, también existen estudios que muestran el proceso contrario, es decir, reducciones de la actividad (Coutin-Churchman & Moreno, 2008; Saletu et al., 2010; Quraan et al., 2013). En ambos casos, los cambios de esta oscilación asociarían al incremento o la disminución de la participación de este área procesos emocionales (Pizzagalli, 2010; Fernández-Palleiro et al., 2019).

En los últimos años, a raíz de la investigación y el desarrollo de los fármacos antidepresivos basados en la transmisión glutamatérgica, se ha puesto el foco en las oscilaciones gamma (30-200 Hz) como biomarcador en la depresión. Los estudios muestran diferencias en estos ritmos entre sujetos controles y deprimidos, sin embargo, debido a los enfoques experimentales utilizados y las bandas/áreas analizadas los resultados son diversos (Fitzgerald & Watson, 2018). Por ejemplo, Pizzagalli et al. (2006), encontraron una disminución de la banda gamma en reposo en la ACC, mientras que en el trabajo de Strelets et al. (2007), realizado en pacientes deprimidos, la oscilación gamma estaba aumentada en regiones frontales y temporales si la prueba estaba basada en tareas espaciales, pero estaba reducida mientras se realizaban tareas emocionales (P. S. Lee et al., 2010; T. Y. Liu et al., 2014; Fitzgerald & Watson, 2018).

En coherencia con todos estos resultados, se ha visto que la aplicación de tratamientos para revertir la depresión genera cambios en las oscilaciones descritas. Por ejemplo, Bruder et al. (2001) encontraron que la actividad alfa podría ser un marcador de la respuesta positiva a la fluoxetina. En concreto, se observó que la potencia de la oscilación era similar entre los pacientes sanos y los deprimidos, pero las medidas de asimetría mostraron una reducción en el hemisferio derechos en comparación con los izquierdos en aquellos pacientes que no respondían al tratamiento.

De igual manera, la oscilación theta podría ser un indicador de la respuesta al tratamiento con antidepresivos (Korb et al., 2009, 2011; Hunter et al., 2013; Khodayari-Rostamabad et al., 2013; Bailey et al., 2019) y la oscilación gamma variaría también en función del tratamiento aplicado (Hajos et al., 2002; Puig et al., 2010; Méndez et al., 2012; Akhmetshina et al., 2016), siendo los estos cambios tras la administración de ketamina, aumentos (Hunt et al., 2006; Hakami et al., 2009; Caixeta et al., 2013; Ahnaou et al., 2017; Amat-Foraster et al., 2018; Gilbert & Zarate, 2020) que se interpretan como sustrato funcional de la sintomatología de tipo psicótico (Krystal et al., 1994; Caixeta et al., 2013; Grent-'t-Jong et al., 2018) pero también del inicio del efecto antidepresivo (Zanos et al., 2018).

El sueño como biomarcador: cambios en su arquitectura en la depresión y tras el uso de terapias antidepresivas

Los trastornos del sueño son una característica neurológica de muchos de los desórdenes psiquiátricos. De hecho, debido a su alta tasa de concurrencia, existe una gran investigación acerca de la relación entre ambos fenómenos (depresión y alteración del sueño) que han permitido ampliar el conocimiento de la fisiopatología de la depresión (Tsuno et al., 2005). De hecho, entre el 50 % y el 90 % de los pacientes con depresión diagnosticada padecen también algún trastorno del sueño (Riemann et al., 2001; Abad & Guilleminault, 2005), y un 20 % de los sujetos aquejados de insomnio han sido posteriormente diagnosticados con depresión (Soldatos, 1994; Tsuno et al., 2005). Parece incluso existir una relación bidireccional entre ambos elementos; Y. Sun et al. (2018) encontraron que una menor duración del sueño hace más probable la aparición y recurrencia de un trastorno depresivo y viceversa.

El sueño es un fenómeno fisiológico caracterizado por una disminución de excitabilidad neuronal a los estímulos; forma parte de los procesos más importantes que realiza el cerebro y se considera una fase de recuperación que prepara al cuerpo para el siguiente episodio de vigilia (Datta & MacLean, 2007; Klinzing et al., 2019; Hutka et al., 2021).

La arquitectura normal del sueño consta de dos fases altamente diferenciadas: el sueño con movimiento oculars rápidos (REM, del inglés *Rapid Eye Movement*), y otra fase en la que no se manifiestan estos movimientos (NREM). Normalmente, durante las horas de sueño (entre 7-8 horas dependiendo de la edad S. S. Campbell & Murphy, 2007) existen entre 4-6 ciclos de alternancia entre REM y NREM, donde este último ocupa aproximadamente el 80 % del tiempo total y está definido por 3 fases: fase 1 o de sueño superficial, caracterizada por el comienzo de la realentización de las oscilaciones cerebrales (4-8 Hz); fase 2, donde es característica la presencia de *spindles* y complejos K junto a una disminución de la frecuencia respiratoria y cardíaca; y la fase 3 o fase de sueño profundo o de ondas lentas (SWS, del inglés *Slow Wave Sleep*), donde la actividad cerebral predominante son las ondas lentas (1-4 Hz. **Figura I.18A**). Estas fases se producen principalmente en la primera mitad del ciclo del sueño y van en disminuyendo, debido al incremento del sueño REM, por cada ciclo completo (**Figura I.18B**). El sueño REM, como su nombre indica, se caracteriza principalmente por la aparición de movimientos oculars rápidos junto a la ausencia de tono muscular, el incremento de la frecuencia respiratoria/cardíaca y la presencia de oscilaciones theta en el hipocampo y de actividad rápida en la corteza (Datta & MacLean, 2007; Klinzing et al., 2019; Hutka et al., 2021. **Figura I.18A**).

Es importante recalcar que, aunque los roedores y los humanos comparten la naturaleza cíclica del sueño SWS y REM, existen diferencias en el sueño de estas dos especies. En comparación con los humanos, el sueño de los roedores es más fragmentado, con periodos de sueños más cortos y con una mayor presencia de despertares y cambios de ciclos. Además, la actividad theta del sueño REM, es más marcada en roedores que en humanos y las *spindles* pueden abarcar un rango más amplio de frecuencias (Seibt et al., 2017; Niethard et al., 2018; Klinzing et al., 2019).

Las alteraciones presentes en el sueño en pacientes con depresión (**Figura I.18C**) pueden clasificarse principalmente en 3 tipos: alteraciones en la continuidad del sueño, en el SWS y en el REM (Foster et al., 1976; Kupfer, 1978; Benca et al., 1992; Steiger & Kimura, 2010; Wichniak et al., 2012; Palagini et al., 2013; Wichniak et al., 2013; Y. Wang et al., 2015; Hutka et al., 2021).

Las alteraciones en la arquitectura del sueño parecen revertirse con el uso de terapias antidepresivas. Este es el caso de la privación del sueño, uno de los tratamientos de acción más

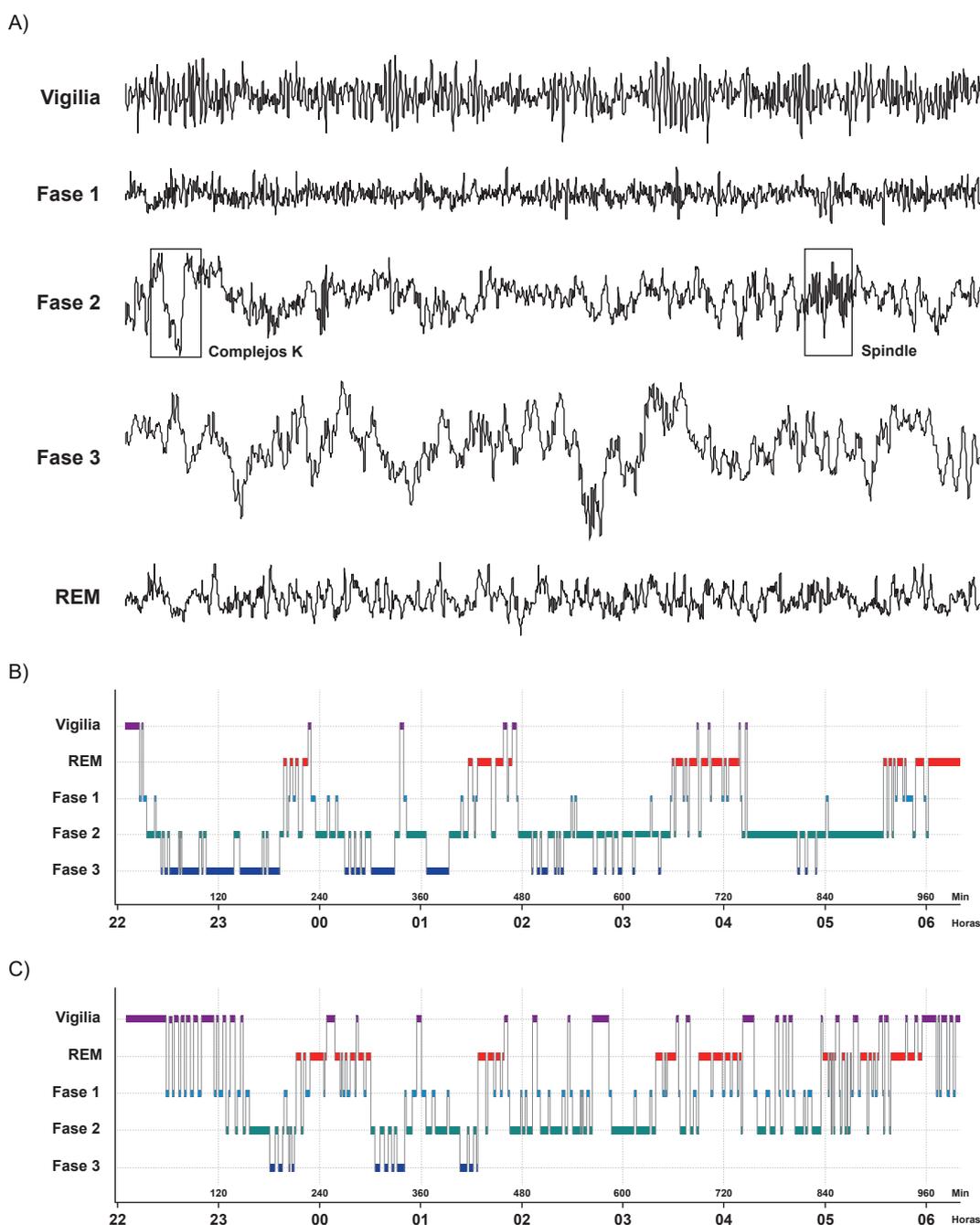


Fig. I.18: EEG de la vigilia, el sueño e hipnogramas. A) Patrones electroencefalográficos de la vigilia y las fases del sueño. Durante la vigilia se suele encontrar un patrón de EEG rápido con baja amplitud. A medida que el sueño se hace más profundo, la frecuencia del EEG disminuye, dando paso cada vez a ritmos más lentos. La fase 2 del sueño se caracteriza principalmente por la presencia de complejos *K* y *spindles*. Durante la fase del sueño 3 las oscilaciones delta serán la actividad predominante (gran amplitud y una frecuencia baja). Durante el sueño REM, el EEG vuelve a un patrón similar al de la vigilia (EEG rápido con poca amplitud), y caracterizado por la presencia de ondas theta. **B)** Hipnograma de un sujeto control. El hipnograma de un sujeto sin patologías se caracteriza principalmente por la presencia de sueño lento durante las primeras horas de la noche que van disminuyendo a medida que se incrementa el tiempo de fase REM. **(Continúa en la página siguiente).**

Fig. I.18: (Continuación) C Hipnograma de un sujeto con depresión. El sueño en la depresión se caracteriza por alteraciones de la continuidad del sueño debido al incremento de microdespertares, la reducción del SWS total y un incremento del sueño REM. Además, también se puede observar un acortamiento de la latencia REM, el cual ocurre durante las primeras horas del sueño. Adaptada de Khalighi et al. (2013) y Wichniak et al. (2013).

rápidas que produce un gran efecto antidepresivo a corto plazo. Este tratamiento disminuye el número de despertares nocturnos (Martiny et al., 2015) y un adelanto del periodo de sueño dentro del ciclo sueño/vigilia (Kragh et al., 2017; Ioannou et al., 2021). Sus mecanismos de acción parecen estar relacionados con el aumento de la transmisión adenosinérgica, la supresión de las respuestas de excitación producidas por el estrés, la normalización de las alteraciones en el sistema HPA y la restauración del equilibrio monoaminérgico/colinérgico (Adrien, 2002; Benedetti & Colombo, 2011; Wichniak et al., 2013). Uno de los principales problemas que conlleva esta terapia es la elevada tasa de recaídas (80%), es decir, aunque tenga un efecto inmediato beneficioso sobre la arquitectura del sueño, esta se vuelve a alterar. Sin embargo, este riesgo es menor cuando los pacientes toman medicación (Wichniak et al., 2013).

Por su parte, el efecto de los antidepresivos sobre la arquitectura del sueño varía según el fármaco utilizado; mientras unos alivian los problemas en el sueño, otros parecen causar alteraciones, como el insomnio, que influyen sobre el cumplimiento del tratamiento (Kay et al., 2016). Además, la capacidad de los antidepresivos de influir en determinadas monoaminas es crucial a la hora de realizar cambios en el sueño. Por ejemplo, aquellos antidepresivos que aumentan la neurotransmisión noradrenérgica o dopaminérgica empeoran la calidad del sueño a diferencia de los ISRS que reducirían el sueño REM (Gillin et al., 1994; Hutka et al., 2021).

Esto se debe a que el inicio del sueño REM está fuertemente controlado por dos tipos de neuronas: las neuronas REM-on, que comienzan a disparar o aumentan su tasa de disparo durante el sueño REM; y las neuronas REM-off, que realizan el proceso contrario durante el sueño REM (Y. Wang et al., 2015). Casi todas las células REM-off son monoaminérgicas y entre ellas se encontrarían las neuronas del noradrenérgicas del LC, las serotoninérgicas de los RN o las histaminérgicas del núcleo tuberomamilar (McGinty & Harper, 1976; B. L. Jacobs, 1986; Sherin et al., 1998). Por el contrario, las REM-on son mayoritariamente colinérgicas (Sakai, 1988; Datta & Siwek, 2002). Aun no se conocen exactamente los mecanismos de por el cual, las neuronas REM-off dejan de disparar para generar el sueño REM, pero Lu et al. (2006) propusieron un mecanismo denominado *flip-flop* por el cual, neuronas GABAérgicas situadas en el tegmento mesopontino se encargarían de mediar en la inhibición de cada tipo de neuronas REM (Y. Wang et al., 2015).

El uso de antidepresivos que aumentan la 5-HT parece ser el tratamiento que más inhibe el sueño REM que, como se explicó anteriormente, parece estar incrementado en la depresión (Monaca et al., 2002; Argyropoulos & Wilson, 2005; Hutka et al., 2021). Este efecto parece de mayor magnitud al principio del tratamiento, y va disminuyendo con la administración a largo plazo (Lader et al., 2010). La excepción a este hecho se encuentra cuando los antidepresivos administrados pertenecen al grupo de los inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (IMAO, del inglés *Monoamine oxidase inhibitors*), que pueden prolongar la ausencia de sueño REM durante muchos meses (Wyatt et al., 1971; Landolt et al., 2001; Argyropoulos & Wilson, 2005; Wichniak et al., 2017; Hutka et al., 2021).

Además de la supresión del sueño REM, también se ha estudiado la proporción de sueño delta durante el SWS. Su disminución también es característica de la depresión, y tiende a aumentar durante el tratamiento con antidepresivos (Kupfer et al., 1990; Ehlers et al., 1996; Wichniak et

al., 2017). Los SSRI también tendrían la capacidad de aumentar la latencia al primer episodio REM de manera rápida (1 o 2 noches) tanto en sujetos sanos como en personas con depresión, aumentando el tiempo de sueño NREM y la oscilación delta (Kupfer et al., 1990; Jindal et al., 2003).

Es importante destacar que, aunque parezca que estas alteraciones en la estructura del sueño puedan tener una causa en alteraciones a nivel neuroquímico, parece que también podría deberse a una disfunción de la red formada por el hipocampo (Diekelmann & Born, 2010; Buzsáki, 2015; Girardeau & Lopes-Dos-Santos, 2021), amígdala y mPFC (Feng et al., 2018; Hutka et al., 2021). En concreto, en depresión se observa un hipermetabolismo de estas áreas específicamente durante el sueño REM (Feige et al., 2001), lo que, sumado a la reducción hipocampal en los pacientes con depresión (McKinnon et al., 2009; Cole et al., 2011) podría provocar la desregularización del sueño (Hutka et al., 2021). Por último, también se ha demostrado que el uso de ketamina modifica la estructura del sueño, generando sobre todo cambios en la fase de SWS (Feinberg & Campbell, 1993; I. G. Campbell & Feinberg, 1996; Ahnaou et al., 2017; Duncan et al., 2019), pero también modificando la fase REM (Gottschlich et al., 2011; Ahnaou et al., 2017).

Sin embargo, aunque el estudio del sueño ha demostrado una amplia eficacia en la búsqueda de biomarcadores de la depresión, es importante destacar que su estudio es mucho más complicado de lo que parece, sobre todo por que, como ya se explicó uno de los síntomas frecuentes en la depresión es el insomnio (APA, 2014). Algunos autores como Littner et al. (2003) y Berry (2012) no recomiendan el uso de la polisomnografía en pacientes que presentan este problema, debido a lo difícil que es obtener un registro completo, por lo que una buena alternativa sería la búsqueda de los biomarcadores en situaciones de vigilia.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Basándonos en que **(a)** una sola administración de ketamina induce un efecto antidepresivo inmediato y duradero, pero también genera efectos indeseados de tipo psicótico, **(b)** la relación efecto beneficioso/efecto indeseado de la ketamina puede variar según la dosis empleada, **(c)** ambos tipos de efectos pueden ser diferentes entre sexos, **(d)** los efectos antidepresivos de la ketamina pueden reflejarse en cambios a nivel de plasticidad sináptica, **(e)** la descripción de biomarcadores de la patología de la depresión así como de los efectos antidepresivos y psicómiméticos de la ketamina puede favorecer tanto el diagnóstico de la enfermedad como la optimización del uso de este fármaco con fines terapéuticos, **(f)** los marcadores electrofisiológicos se presentan como herramientas útiles a este aspecto, **(g)** la actividad neuronal del circuito entre hipocampo y corteza prefrontal representa un elemento clave en la fisiopatología de la depresión, **(h)** la depresión es una enfermedad eminentemente femenina y poco estudiada en modelos animales hembra, **(i)** la depresión puede desarrollarse por estrés crónico.

Por estas razones, formulamos la siguiente **HIPÓTESIS GENERAL**:

«La administración de ketamina inducirá conductas relacionadas con su potencial efecto antidepresivo, así como con sus efectos psicómiméticos, dependiendo de la dosis empleada y el sexo, que se reflejará en la actividad eléctrica del circuito hipocampo-corteza prefrontal, así como en cambios a nivel de plasticidad sináptica en estas estructuras. Además, la ketamina revertirá las conductas depresivas, así como los correlatos electrofisiológicos de éstas en un modelo animal de depresión por estrés crónico.»

Las **HIPÓTESIS DE TRABAJO** y sus **OBJETIVOS** serán:

Hipótesis 1: La ketamina provocará cambios comportamentales, reflejo de su potencial antidepresivo y efecto psicómimético, de magnitud y duración diferente según la dosis empleada y el sexo de los animales.

- **Objetivo 1:** Estudiar las conductas psicómiméticas inducidas por una dosis baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) de ketamina.
- **Objetivo 2:** Comprobar el potencial efecto antidepresivo a nivel conductual de una dosis baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) de ketamina, así como su duración en el tiempo.
- **Objetivo 3:** estudiar si hay diferencia en la relación efectos deseados/ indeseados de ambas dosis.
- **Objetivo 4:** Comprobar las diferencias entre machos y hembras de los efectos de tipo antidepresivo y psicómimético de cada dosis estudiada de ketamina.

Estos objetivos se evaluarán mediante el experimento I.

Hipótesis 2: La administración de ketamina en machos de ratón activará cascadas moleculares implicadas en procesos de plasticidad neuronal, de manera diferente dependiendo de la dosis empleada y que serán sustrato de su efecto antidepresivo.

- **Objetivo 5:** Cuantificar los cambios en los niveles de las proteínas implicadas en procesos de plasticidad cerebral como son Akt, ERK, mTOR y PSD95, en HPC y PFC de la ketamina a 5 y 30 mg/kg, en aquellos tiempos tras su administración en que se observa efecto antidepressivo.

Este objetivo se evaluará mediante el experimento II.

Hipótesis 3: La administración de ketamina inducirá cambios en la actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC y modificará la arquitectura del sueño. Todos estos cambios podrán correlacionarse con el efecto antidepressivo/psicótico y serán dependientes de la dosis administrada.

- **Objetivo 6:** Caracterizar los patrones de actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC, así como su dinámica temporal tras la administración de ketamina a 5 y 30 mg/kg.
- **Objetivo 7:** Identificar cambios en la arquitectura del sueño tras la administración de ketamina a 5 y 30 mg/kg.
- **Objetivo 8:** Relacionar los cambios observados en los patrones de actividad neuronal y en la arquitectura del sueño con los efectos psicóticos y antidepressivos, así como los cambios a nivel molecular producidos por ambas dosis de ketamina y estudiados en los experimentos 1 y 2.

Estos objetivos se evaluarán mediante el experimento III.

Hipótesis 4: El desarrollo de un estado depresivo en ratones hembra tras la administración crónica de corticosterona, será detectable a través de alteraciones conductuales, del patrón oscilatorio en los registros de actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC y en la arquitectura del sueño.

- **Objetivo 9:** Poner a punto el modelo de depresión en ratón tras la administración crónica de corticosterona.
- **Objetivo 10:** Cuantificar a través de test comportamentales la conducta depresiva/ansiosa producida a tras la administración crónica de corticosterona.
- **Objetivo 11:** Caracterizar alteraciones en los patrones de actividad neuronal de HPCd y vmPFC y en la comunicación de ambas estructuras en el modelo de depresión por administración crónica de corticosterona.
- **Objetivo 12:** Caracterizar cambios en la arquitectura del sueño en el modelo de depresión.
- **Objetivo 13:** Relacionar los cambios observados en los patrones de actividad neuronal y en la arquitectura del sueño con el estado depresivo y ansioso inducido el tratamiento crónico de corticosterona.
- **Objetivo 14:** Abordar estos objetivos en hembras, puesto que la depresión es una enfermedad con mayor prevalencia en mujeres, pero más estudiada en modelos animales macho.

Estos objetivos se evaluarán mediante los experimentos IV y V.

Hipótesis 5: La dosis de ketamina con mayor efecto antidepresivo y menor efecto psicótico de las estudiadas en los experimentos previos, será capaz de revertir la sintomatología depresiva generada por la administración crónica de corticosterona, tanto a nivel comportamental como electrofisiológico, y a nivel de la estructura del sueño.

- **Objetivo 15:** Comprobar el efecto antidepresivo de la dosis de ketamina que muestre la mejor relación potencial antidepresivo/efecto psicótico en el experimento 1, en ratones sometidos a un procedimiento para inducir depresión por la administración crónica de corticosterona, desde el punto de vista comportamental.
- **Objetivo 16:** Comprobar si esta dosis de ketamina revierte o cambia el patrón electrofisiológico en HPCd y vmPFC, en ratones que han pasado por el modelo de depresión generado por la administración crónica de corticosterona.
- **Objetivo 17:** Caracterizar si la dosis de ketamina elegida revierte o mejora la arquitectura del sueño en ratones que han pasado por el modelo de depresión generado por la administración crónica de corticosterona.
- **Objetivo 18:** Relacionar los cambios observados en los patrones de actividad neuronal y en la arquitectura del sueño con el efecto antidepresivo de la ketamina.
- **Objetivo 19:** Estudiar todos estos aspectos en hembras, puesto que la depresión es una enfermedad con mayor prevalencia en mujeres, pero más estudiada en modelos animales macho.

Estos objetivos se evaluarán mediante los experimentos IV y V.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos experimentales

Para la realización de los experimentos descritos en este trabajo se utilizaron un total de 104 ratones de la cepa CD1 (Charles River, Barcelona, España) de entre 30 y 35 gramos de peso. Los animales se mantuvieron estabulados a una temperatura regulada ($23 \pm 3^\circ\text{C}$), un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas y disponían de comida y agua *ad libitum*. De acuerdo con lo establecido en los procedimientos también se controló el peso una vez por semana.

Los procedimientos llevados a cabo contaban con la con la aprobación del Comité de Ética en Investigación y Bienestar Animal de la Universidad de Valencia con los códigos (A1537799771649, A20200915104657, A1537191353630, A153738461007, A2021011312353) y se cumplieron las normas para la buena práctica con animales de experimentación de la directiva europea para la protección animal en el uso científico (2010/63/EU) del Parlamento Europeo y del Consejo de las Comunidades Europeas del 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. En todo momento se trató de minimizar el dolor de los animales de experimentación, tanto en las cirugías como la posterior recuperación de los animales.

Diseños experimentales

Para alcanzar los objetivos propuestos en la presente Tesis Doctoral se realizaron 5 experimentos. Dado que estos comparten aproximaciones metodológicas, primero se describirá y fundamentará el diseño de cada experimento, y se concretará a qué objetivos responden y, a continuación, se detallarán los procedimientos empleados.

Experimento I: Estudio del potencial efecto antidepresivo y psicomimético de una dosis baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) de ketamina y su evolución temporal, en machos y hembras de ratón

Este experimento responde a los **primeros 4 objetivos**, en breve, estudiar el potencial efecto antidepresivo y las conductas psicomiméticas inducidas por una dosis baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) de ketamina a lo largo del tiempo, y tanto en machos como en hembras, y comprobar si existen diferencias relevantes en la relación efectos deseados/indeseados e cada dosis estudiada. Para ello, y tal y como indica la **Figura MM.1**.

Los dos días previos al inicio del experimento, todos los animales fueron habituados al experimentador, a la sala donde se llevarían a cabo los test y a la administración de sustancias (días -1 y -2 en la **Figura MM.1**).

El día 1 se llevó a cabo un primer test para evaluar efecto psicótico de manera inmediata a la administración de ketamina; en concreto, un test de reconocimiento de objetos (NORT del inglés *Novel Object Recognition Test*) en los siguiente grupos experimentales: control (a estos animales se les administró salino intraperitonealmente), grupo 5 mg/kg (a estos animales se les administró 5 mg/kg de ketamina) y 30 mg/kg (en este caso los sujetos recibían 30 mg/kg por vía intraperitoneal). Además, el experimento se realizó tanto en machos como en hembras, por lo que fueron un total de 6 grupos experimentales. Este test se explica en detalle más ade-

lante. De manera breve consiste, en que los animales exploran primero dos objetos iguales, a continuación, se les administra ketamina a la dosis que corresponde según su grupo, o salino si son grupo control, y a continuación uno de los objetos es cambiado por uno nuevo, de manera que ahora los animales tienen acceso a un objeto que ya conocían y uno novedoso (que en condiciones normales será explorado preferencialmente). Todo el procedimiento es registrado en vídeo y se evalúan distintas variables que se relacionan con afectaciones en memoria y/o percepción. Además, sobre estas mismas grabaciones podemos medir locomoción y comportamientos atáxicos y estereotípicos. Todas estas variables en conjunto nos informan sobre estado psicótico (el detalle de estas medidas está explicado en sus secciones correspondientes de la metodología).

El mismo día, pero 2 horas después de la administración se realizó un segundo NORT para evaluar la permanencia o no de la sintomatología psicótica. Además, se realiza un test de suspensión de la cola (o TST del inglés *Tail Suspension Test*. **Figura MM.1**), procedimiento que se utiliza de manera habitual para evaluar potencial antidepressivo de fármacos. Se basa en exponer al animal en una situación estresante de la que tratará de escapar y se fundamenta en que la magnitud con que lo intentan es reflejo del potencial antidepressivo del fármaco administrado, en este caso la ketamina.

Los días 2 y 8 (**Figura MM.1**) se lleva a cabo un test de natación forzada o lo que en inglés se denomina *Forced Swimming Test* (FST), que también permite cuantificar el potencial efecto antidepressivo del fármaco, basándose en el mismo fundamento que el TST, el animal manifestará conductas reflejo de su intención de sobrevivir. Así comprobamos la duración del posible efecto antidepressivo de cada dosis, a las 24 horas y a los 7 días tras su administración. Al finalizar, los animales eran sacrificados a través del método de dislocación cervical.

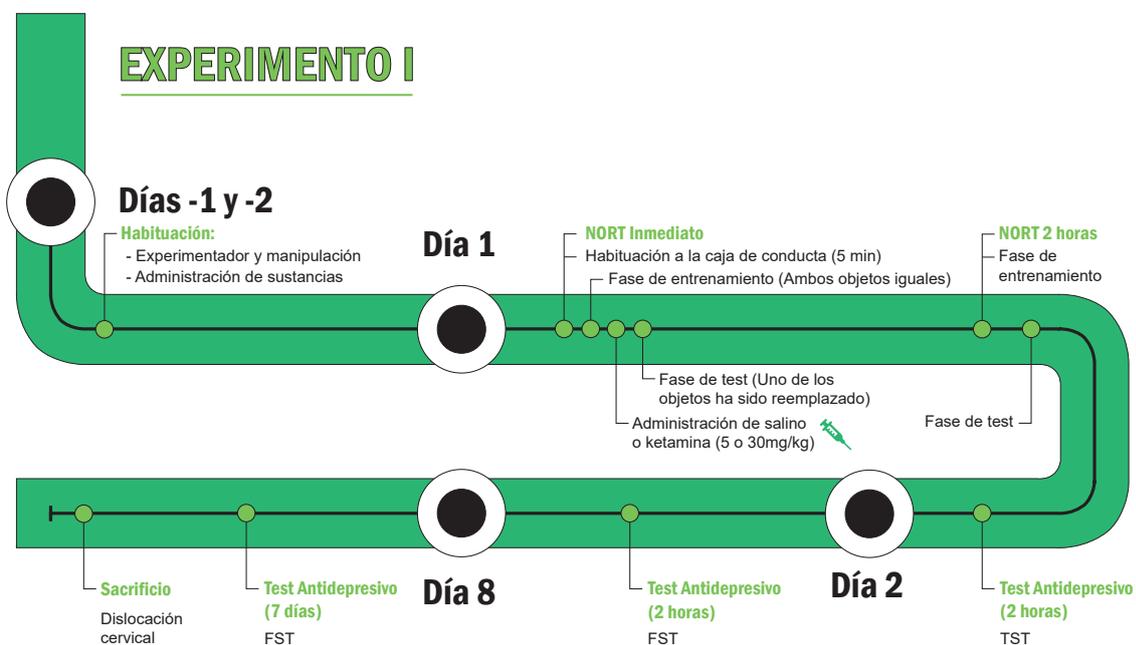


Fig. MM.1: Esquema del diseño experimental realizado en el experimento I

Experimento II: Estudio de los efectos sobre la expresión de proteínas relacionadas con plasticidad sináptica inducidos por dos dosis de ketamina con potencial antidepressivo, una baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) en HPC y vmPFC

Una vez conocidos los efectos conductuales de ambas dosis estudiadas se procedió a estudiar los cambios moleculares originados por cada dosis de ketamina (**objetivo 5**) se cuantificaron a través de la técnica de *Western Blot* las proteínas Akt, ERK, mTOR y PSD95. Este experimento se llevó a cabo solo en machos y la cuantificación de las proteínas se llevaron a cabo en dos momentos: a las 2 horas y a las 24 horas tras la inyección de cada dosis de ketamina, en dos grupos independientes de animales. Así, tal y como muestra la **Figura MM.2**.

Se administró salino, 5 mg/kg o 30 mg/kg de ketamina a tres grupos independientes de animales, y la mitad fueron sacrificados a las 2 horas y a la otra mitad a las 24 horas tras la administración por el método de dislocación cervical, se realizaba la extracción del HPC y de la vmPFC y las muestras eran congeladas hasta que se realizaba el *Western Blot*. La técnica se encuentra explicada en la sección correspondiente de la metodología.

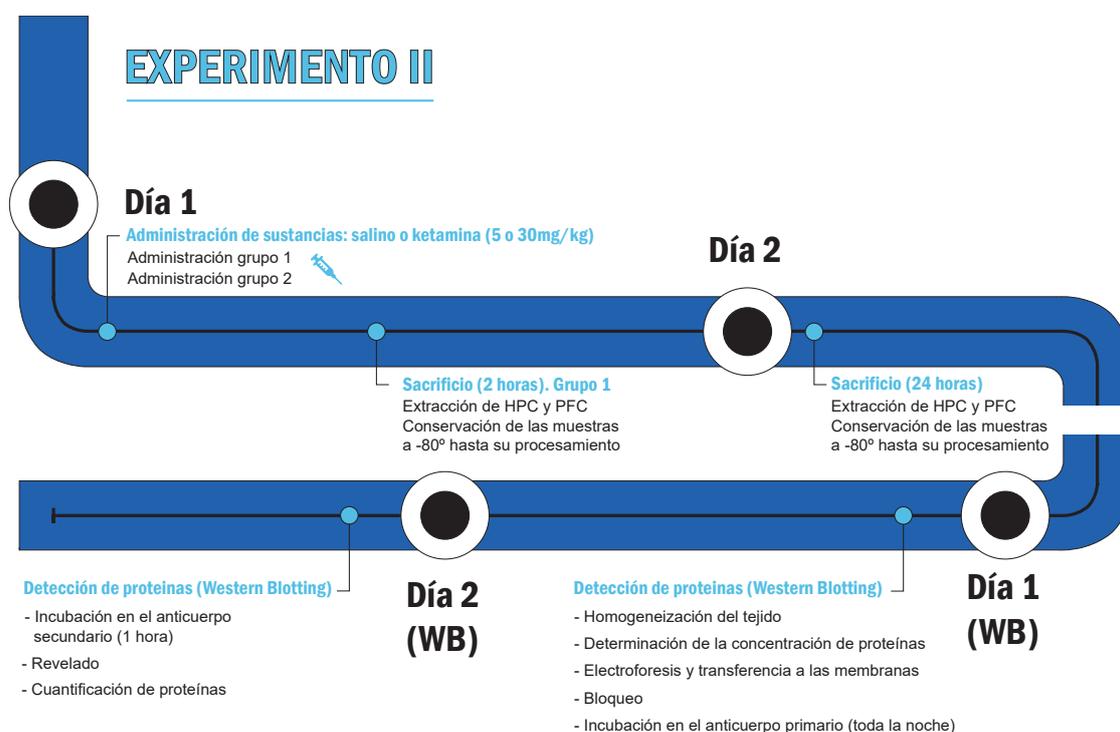


Fig. MM.2: Esquema del diseño experimental realizado en el experimento II

Experimento III. Efectos sobre la actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC producidos por la administración de ketamina a 5 y 30 mg/kg

Este experimento pretende abordar los **objetivos 6, 7 y 8**. Es decir, caracterizar el efecto a nivel de actividad eléctrica individual y coordinada de HPCd y vmPFC tras administrar las dos dosis de ketamina en estudio, pero además, a lo largo de un eje temporal que nos permita correlacionarlo con las variables medidas a nivel conductual y molecular en los experimentos I y II. Este experimento se llevó a cabo también solo en machos.

Para ello se diseñó el experimento que muestra la **Figura MM.3**, los animales pasaban por una cirugía de implantación de electrodos (descrita en su sección correspondiente de la metodología) y tras estas los animales se recuperaban en cajas de estabulación individuales durante 5 días.

Una vez transcurrido este tiempo, y durante los dos días siguientes (**Figura MM.3**), los animales eran habituados a diversos factores como eran: la caja semicircular donde se llevaría a cabo el registro, donde pasaban aproximadamente una hora al día; al experimentador; a la administración de sustancias; y a la colocación del aparato de captación de la señal electrofisiológica (que se realizaba bajo anestesia inhalatoria).

Una vez finalizada el periodo de recuperación (días -1 a -5) y habituación (días -5 a -7. **Figura MM.3**) comenzaba el experimento en sí con un primer registro basal (día 1): en el cual el animal era colocado en la caja sin haber recibido ninguna sustancia, solamente el pinchazo intraperitoneal. Al día siguiente (día 2), se llevaba a cabo otro registro para comprobar si existía un efecto de la administración de sustancias, es decir, tras administrar suero salino a un volumen de 0.2 ml (vehículo donde estaría diluida la ketamina). El día 3, a la mitad de los animales se les administraba 5 o 30 mg/kg de ketamina en función del grupo al que pertenecieran (**Figura MM.3**).

Por último, se realizaron otros dos registros más: uno a las 24 horas de la administración del fármaco (día 4) y otro a los 7 días (día 10 del experimento). Durante todos los registros los animales pasaban una media de 2 horas y media dentro de la caja de registro sin interrupción en ningún momento por parte del experimentador (**Figura MM.3**).

Al finalizar el último día de registro los animales eran sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico y perfundidos, para poder extraer el cerebro y realizar la verificación histológica.

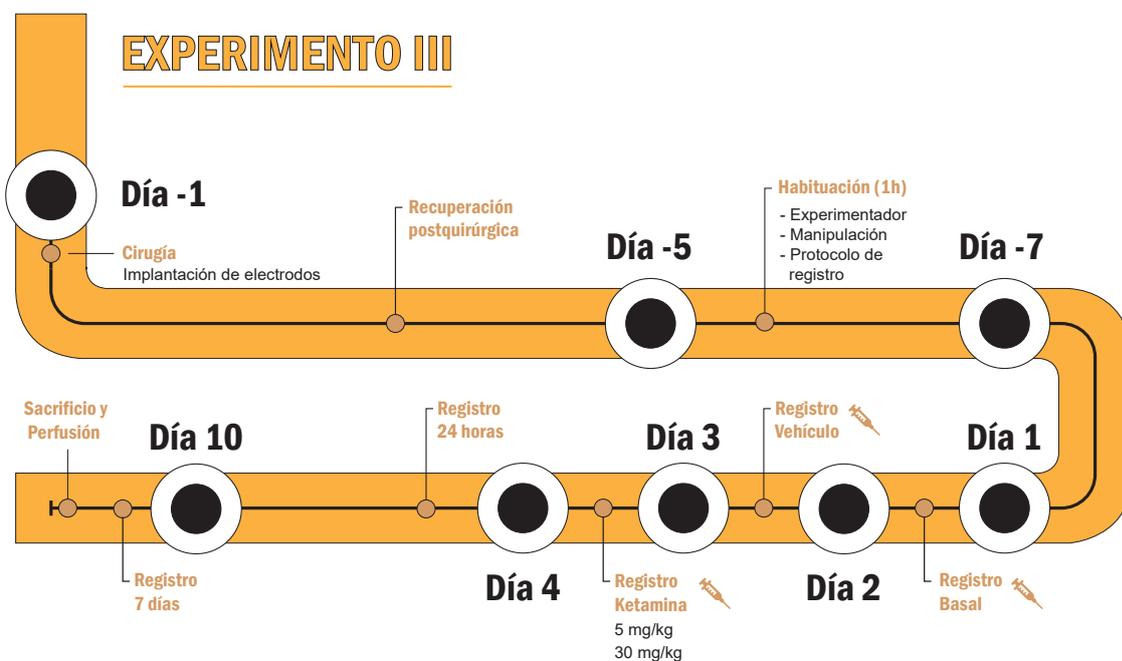


Fig. MM.3: Esquema del diseño experimental realizado en el experimento III

Los resultados de los experimentos I, II y III están descritos y discutidos en el apartado de

resultados y discusión de la Tesis Doctoral.

Experimento IV. Estudio del desarrollo de conductas de tipo depresivo y ansioso en un modelo de depresión por administración crónica de corticosterona en hembras de ratón

Este experimento pretende responder a los **objetivos 9 y 10**, es decir, generar un modelo de depresión en ratones hembra por estrés crónico, en concreto por administración de corticosterona, y cuantificar el desarrollo de tales estados conductualmente.

Para ello se diseñó el experimento que se muestra en la figura **Figura MM.4**. Los dos días previos al inicio del experimento se realizó habituación de los animales al experimentador y a la sala donde se llevaría a cabo la conducta. El primer día del experimento (día 1) se realizó un TST y se empieza el tratamiento con corticosterona en el grupo experimental y sin corticosterona (unicamente con el vehículo) en los animales del grupo control. Este tratamiento se mantuvo durante 22 días, hasta alcanzar hasta el final del experimento.

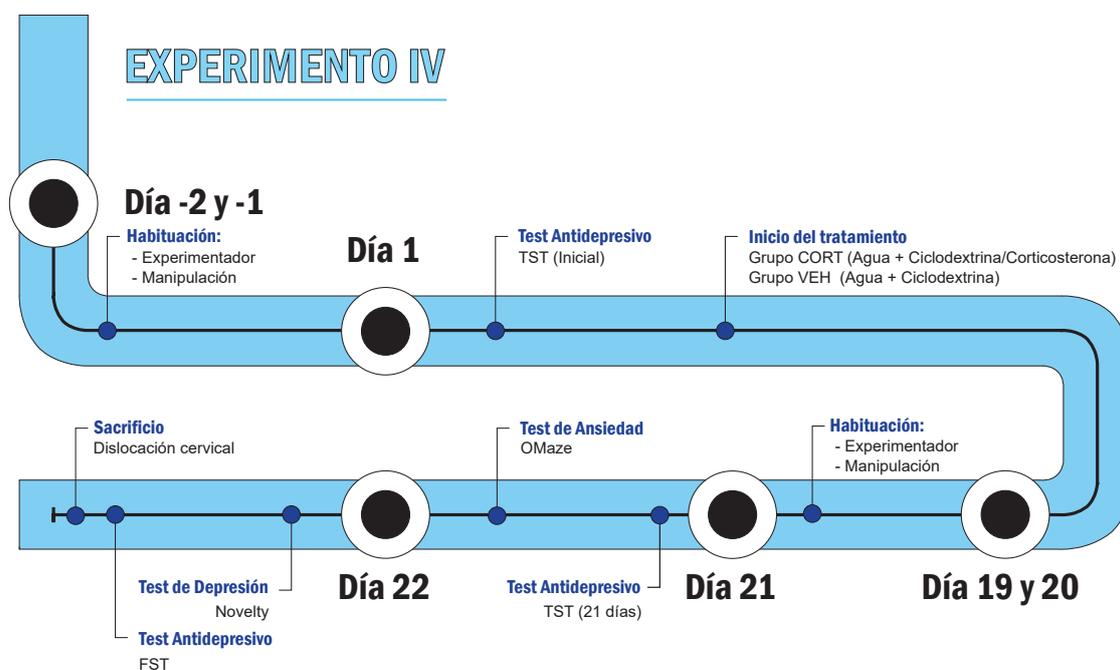


Fig. MM.4: Esquema del diseño experimental realizado en el experimento IV

El día 21 se realiza un nuevo TST, para comprobar el efecto de este tratamiento. 1 hora después se realizó el *OMaze*, que es un test empleado de manera extendida para comprobar el nivel de ansiedad de los animales. El análisis de los TST permite una comparación intra y entre grupos para comprobar si los animales han desarrollado conductas depresivas en el grupo experimental. Las medidas de ansiedad se llevaron a cabo por dos motivos: el primero de ellos es debido a que la ansiedad presenta una alta comorbilidad en los trastornos depresivos; el segundo es debido al modelo utilizado para generar depresión el cual se basaba fundamentalmente en el desarrollo de la sintomatología depresiva a través de la exposición a un estrés crónico (**Figura MM.4**).

Por último, el día 22, se realizaron dos test más para medir la conducta depresiva, un *Novelty suppressed-feeding test (Novelty)* y un FST. El *Novelty* se basa, como se detallará posteriormente,

en que se expone al animal a comida en una situación ansiógena, tras un periodo de ayuno. Actualmente se emplea para determinar la eficacia de tratamientos que generan depresión, como los realizados con corticosterona (D. J. David et al., 2009), entendiendo que la medida de la latencia a comer en esta situación es un indicativo del estado depresivo de los animales. El FST se realizó una hora después del Novelty para evitar que la realización de este test afectase a los parámetros medidos en el FST. Tras la finalización de las pruebas los animales eran sacrificados (**Figura MM.4**).

Experimento V. Estudio en hembras de ratón del efecto antidepresivo de 5 mg/kg de ketamina. Análisis de la actividad de vmPFC y HPCd como posible sustrato funcional del estado depresivo generado por la corticosterona y de la mejora sintomatológica generada por la ketamina

En este experimento, se abordaron los **objetivos 11 al 19** es decir, caracterizar alteraciones en los patrones de actividad neuronal de HPCd y vmPFC y en la comunicación de ambas estructuras, así como en la estructura del sueño tras la aplicación del modelo de depresión producido por la administración crónica de corticosterona. Además, pretendemos comprobar el posible efecto antidepresivo a nivel conductual de la ketamina en este modelo, de la dosis que muestre la mejor relación efecto antidepresivo/efecto psicótico, en el experimento I, así como si revierte o cambia el patrón electrofisiológico en HPCd y vmPFC y la estructura del sueño en ratones que han pasado por el modelo de depresión generado por la administración crónica de corticosterona. Con todos estos datos esperamos poder relacionar los cambios observados en los patrones de actividad neuronal y en la arquitectura del sueño con el efecto antidepresivo de la ketamina. Este experimento se realiza en hembras para analizar todas las variables específicamente, en el sexo en el que la depresión tiene mayor prevalencia.

Para todo ello, y como muestra la **Figura MM.5**, nuevos animales pasaron por el mismo proceso quirúrgico, recuperación y habituación descritos en el experimento II.

En este experimento para la parte conductual se emplearon como controles sin tratamiento los animales del experimento anterior. Por este motivo, todos los animales de este experimento recibieron corticosterona de manera crónica, y el efecto del tratamiento era comprobado mediante un TST antes y después del mismo, tal y como se realizó en el experimento anterior (día 21. **Figura MM.5**).

Sin embargo, el día 22 del tratamiento, un grupo de estos animales (CORT + Salino) recibiría una inyección intraperitoneal de salino y el otro (CORT + Ket) de ketamina. El objetivo es comprobar si el tratamiento con ketamina revierte el estado depresivo. Para ello, a las dos horas de la administración se llevó a cabo el test *Novelty* y el *OMaze*, y 24 horas después de la administración de ketamina (día 23) se llevó a cabo un FST con el objetivo de comprobar a nivel conductual el efecto antidepresivo a las 24 horas de la administración de la ketamina (**Figura MM.5**).

Estos tests conductuales fueron acompañados de registros electrofisiológicos que permitirían correlacionar la actividad de HPCd y vmPFC con cada momento/estado de los animales, así como la estructura del sueño. En concreto (tal y como también muestra la **Figura MM.5**), se realizó un registro antes de iniciar el tratamiento con corticosterona, día 1, que nos dará una idea del estado inicial antes de cualquier manipulación (registro basal), otro registro el día 21, para mostrar cómo es la actividad electrofisiológica subyacente al estado depresivo y un último, el día 23, que mostraría la actividad tras el tratamiento con ketamina/salino, es decir, cuál es la actividad sustrato de la mejora a nivel conductual si esta se produce (**Figura MM.5**).

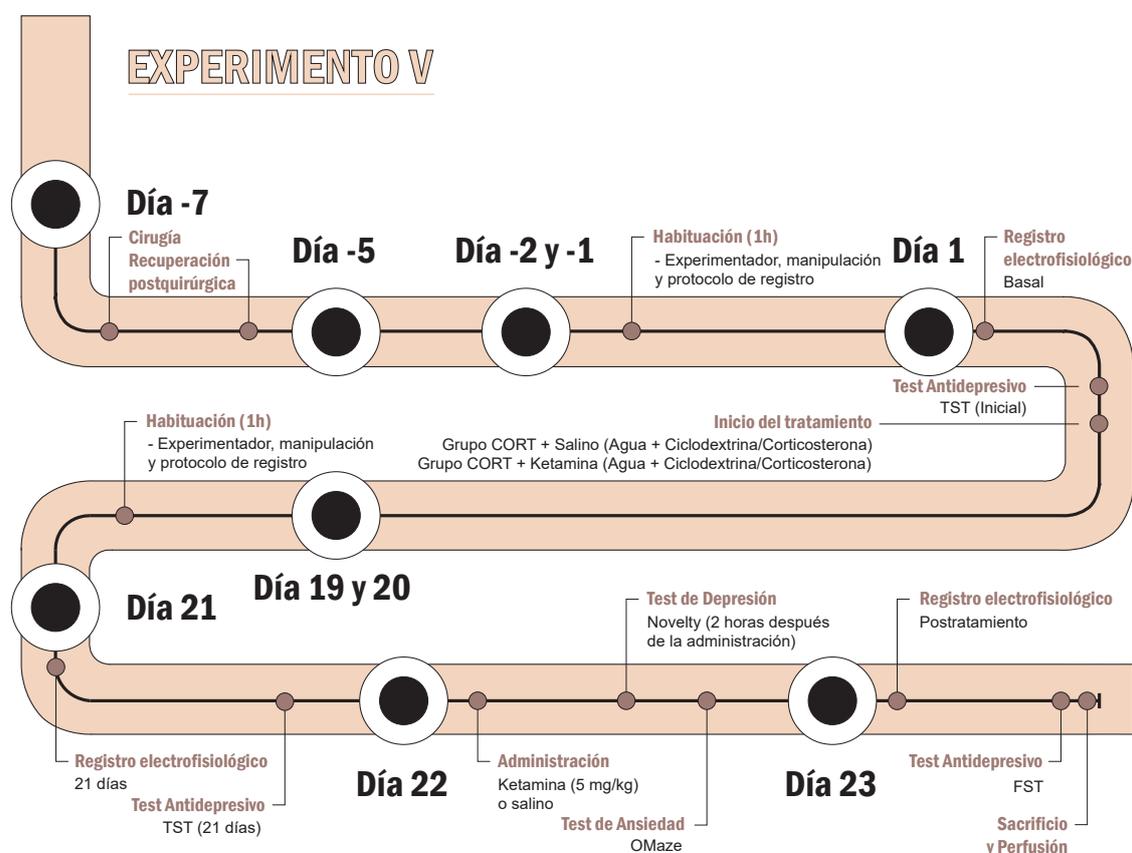


Fig. MM.5: Esquema del diseño experimental realizado en el experimento V

Los resultados de los experimentos IV y V están descritos y discutidos en el apartado de resultados y discusión de la Tesis Doctoral.

Cirugías e implantación de electrodos

Los animales fueron anestesiados por vía inhalatoria con isoflurano (3 – 3.5 % isoflurano; Ecuphar, Barcelona, España; 0.8 – 1 l/min O₂) y posteriormente emplazados en un marco estereotáxico (Narishige, Japón) donde se ajustaba la concentración de isoflurano (1.5 – 2 %) y de O₂ (0.3 – 0.35 l/min) para el mantenimiento de la anestesia. Además, durante la cirugía se utilizó una lámpara infrarroja de calor con el fin de mantener la temperatura corporal de los animales (modelo 920-5189, Weelko).

A continuación, se inyectaba lidocaína (0,1 ml; subcutánea; Richter Pharma, Wels, Austria) en los puntos de sujeción del aparato estereotáxico, y en los puntos de bloqueo de los nervios zigomático, oftálmico y las fibras C2, para proporcionar anestesia local en la región de la incisión. Además, se inyectaba atropina (0.05 mg/kg, intraperitoneal; Laboratorios Serra Pamies, Tarragona, España), como medicación preanestésica para disminuir el riesgo de inhibición vagal sobre el corazón y para reducir las secreciones salivar y bronquial; y buprenorfina (0.03 mg/kg, subcutánea; Richter Pharma, Wels, Austria) como analgésico. El procedimiento quirúrgico se empezaba cuando los reflejos plantares, palpebral, de retirada de la cola y la pata trasera habían desaparecido.

Tras el procedimiento prequirúrgico, se practicaba una incisión en la línea sagital media, se limpiaba el cráneo y se retiraban las fascias y demás tejido conectivo y partir de ahí se tomaban las coordenadas de bregma y lambda del cráneo del animal. Teóricamente, entre estos dos puntos debe existir una distancia de 4.21 mm (Paxinos & Franklin, 2008). Si esta medida no se cumplía, se calculaba un factor de corrección (distancia teórica/distancia real de ambos puntos) que sería aplicado a las coordenadas (factor de corrección por coordenada anteroposterior, medio-lateral y dorsoventral del área en cuestión) obtenidas en el atlas (Paxinos & Franklin, 2008) de las estructuras de interés. Además, también se comprobaba la coordenada dorsoventral de ambos puntos para confirmar que estaban alineados y si no, ajustaba el adaptador que sujetaba la cabeza del animal hasta que se consiguiera la alineación entre ambos puntos.

Tras este proceso de medida y ajuste, se marcaban y trepanaban los correspondientes agujeros mediante un taladro eléctrico (modelo MH-Perfecta 9975-E; W&H, Bürmoos, Austria) donde, posteriormente, se realizaría la implantación de los electrodos monopolares de acero inoxidable (120 µm de diámetro; *World Precision Instruments*, Aston, Stevenage, Reino Unido).

Además, se implantaba también un electrodo en los músculos nucales del animal del que se obtendría información acerca del tono muscular durante los registros electrofisiológicos. También se colocaron dos tornillos, uno de ellos sobre el hueso occipital (al nivel de cerebelo) y otro en el hueso parietal derecho. Ambos disponían también de un electrodo que permitirían utilizarlos como referencia.

A continuación, se extendía por la superficie del cráneo un pegamento dental (*OptiBond All In One*; KERR, Dartmouth, Canadá) que se endurecía gracias a una lamara de luz azul ultravioleta (Woodpecker Led D; DTE, Recklinghausen, Alemania). El pegamento, junto a los tornillos, ayudaría a asegurar la permanencia del implante durante todo el experimento.

Una vez el pegamento había polimerizado, se procedía a la implantación de los electrodos usando un brazo estereotáxico (Narishige, Japón). Las áreas donde se implantaron los electrodos fueron: la corteza prefrontal ventromedial izquierda y el hipocampo dorsal derecho. Las coordenadas finales usadas están recogidas en la **Tabla MM.1**. Todas las coordenadas fueron determinadas según el atlas de Paxinos & Franklin (2008).

Tabla MM.1: Coordenadas estereotáxicas

Áreas de registro	Coordenada anteroposterior	Coordenada medio-lateral	Coordenada dorsoventral
HPCd	-1.94	-1.5	1.3
vmPFC	1.94	0.5	3 ± 0.3

Una vez en su posición final, los electrodos se fijaban al cráneo con cemento dental (Duralay; Reliance, Illinois; EUA) y se introducían dentro de una placa RoHs (Omnetics Connector Corporation, Minneapolis, EUA), donde eran clampados con un pin de oro (Omnetics Connector Corporation, Minneapolis, EUA) para asegurar una buena conexión electrodo – placa RoHS. Finalmente, todo el implante quedaba recogido dentro de un soporte realizado con impresión 3D de resina (**Figura MM.6A**; diseño propio, Form2; Formlabs, Berlín, Alemania) y era tapado con un conjunto de tapas en función del día experimental (**Figura MM.6B izquierda** [tapa que llevaban los animales durante su estancia en la jaula] y **derecha** [tapa que llevaban los animales durante los registros electrofisiológicos]; diseño propio, Form2; Formlabs, Berlín,

Alemania).

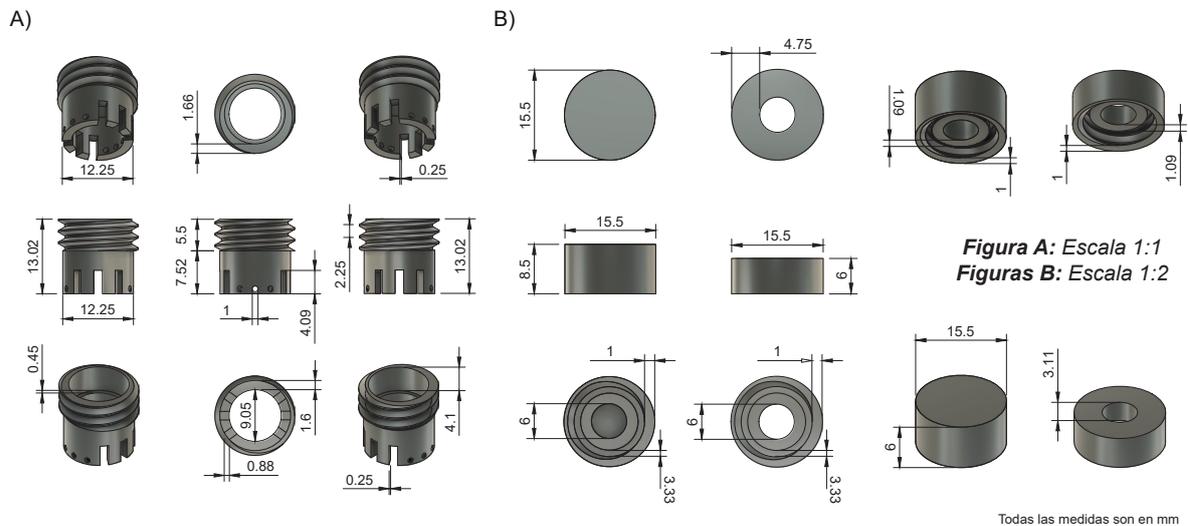


Fig. MM.6: Soporte y tapas realizados para asegurar la integridad de los electrodos. **A)** Soporte a escala 1:1 (todas las medidas están en milímetros) en el que se recogían los electrodos. Este soporte se colocaría sobre el cráneo del animal y sería fijado a este con cemento dental. **B)** Tapas a escala 1:2 (todas las medidas están en milímetros) que protegían y aseguraban la placa RoHs en función del día experimental. La tapa situada en la parte izquierda (sin agujero en la parte superior) se utilizaba mientras los animales estaban en su jaula para evitar que la suciedad entrase. La tapa situada en la parte derecha de la imagen (con agujero en la parte superior) se colocaba durante el registro y permitía la unión entre el transmisor inalámbrico y la placa RoHs. (Continúa en la página siguiente).

Una vez finalizada la operación, y durante los dos días siguientes, se administraba a través de la vía peritoneal buprenorfina (0.03 mg/kg) y meloxicam (0.05 mg/kg; Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania) para reducir el dolor y la inflamación de los animales.

Adquisición de la señal

Los días de registro el animal era anestesiado por vía inhalatoria (isofluorano) para colocarle el transmisor inalámbrico (Triangle BioSystems International, Durham, Reino Unido). Este transmisor iba acoplado en la placa RoHS, y asegurado para evitar que el animal se lo quitase, con una pieza de resina diseñada con una impresora 3D (**Figura MM.6B**). Una vez hecho esto, el animal pasaba aproximadamente dos horas y media en un cubículo semiesférico de metacrilato 31 cm de alto y 66 cm de radio.

Durante las sesiones de registro el transmisor inalámbrico enviaba la señal de la actividad eléctrica de la zona adquisición, a dos antenas situadas en los bordes de la semiesfera conectadas a un receptor (Triangle BioSystems International, Durham, Reino Unido). El receptor a su vez transmitía la señal a una unidad de digitalización (CED Micro 1401; Cambridge Electronic Design, Cambridge, Reino Unido), con un muestreo de 1000 Hz, y observada a tiempo real mediante el software Spike2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Reino Unido).

Verificación histológica

La posición final de los electrodos fue verificada histológicamente en todos los experimentos electrofisiológicos en secciones de 40 μ m obtenidas en micrótomos de congelación (Leica Mi-

crossystems; Alemania) y procesadas mediante el método de la tinción de Giemsa. En concreto, se determinó el recorrido y la punta del electrodo visualizando la lesión originada a través técnicas de microscopia óptica (ZEISS Axio Scope.A1) y con la guía del atlas de Paxinos & Franklin (2008) (**Figura MM.7A** para HPCd y **Figura MM.7B** para vmPFC).

Para ello, una vez finalizado los experimentos, los animales eran sacrificados; primero se les anestesiaba con isofluorano y después les inyectaba una sobredosis de pentobarbital sódico (100 mg/kg; Dolethal Vetoquinol, Madrid, España). Una vez perdidos los reflejos plantares y de retirada de la cola eran perfundidos con suero salino heparinizado (0.9% a pH = 7, 1500 U/L de Heparina; ROVI, Madrid, España) y un 4% de paraformaldehído (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA).

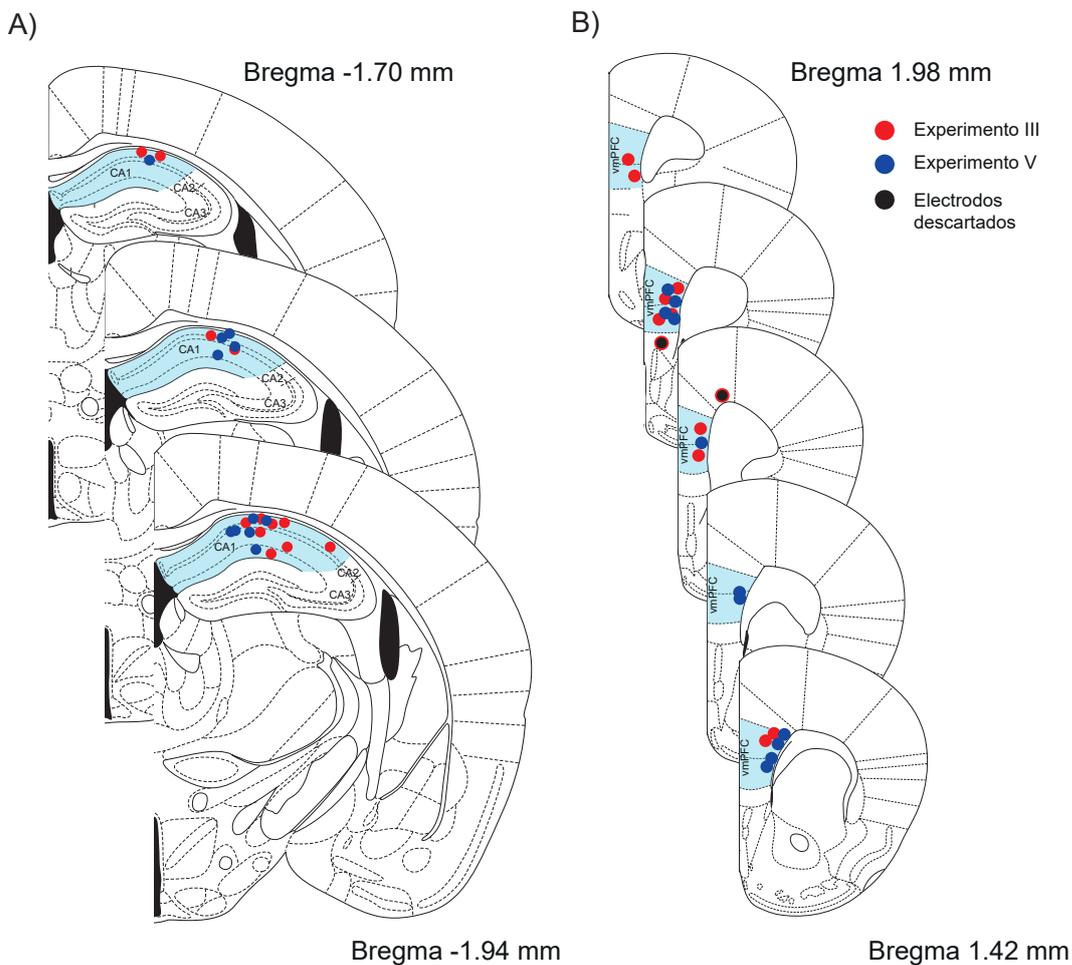


Fig. MM.7: Esquema de la posición final de los electrodos. A) HPCd y B) vmPFC. En color rojo se marcan la posición final de aquellos electrodos implantados en los animales del experimento III y en azul los del experimento V. Los electrodos de color negro fueron aquellos que no se encontraron dentro del área de interés y cuya señal fue descartada del análisis (Paxinos & Franklin, 2008).

Análisis de los datos electrofisiológicos

Las señales procedentes de los registros electrofisiológicos fueron analizadas *off-line* utilizando el programa MATLAB® (R2021b, The MathWorks, Natick, MA, EUA) mediante rutinas propias.

En primer lugar, en todos los registros se redujo la frecuencia de muestreo a 500 Hz. Después, se diseñó y aplicó un filtro *Butterworth* para eliminar la señal de 50 Hz (± 1 Hz) proveniente de la red eléctrica y sus armónicos (100, 150, 200 y 250 Hz). Por último, todas las señales fueron transformadas y normalizadas a puntuación Z (media 0 y desviación típica ± 1). Todos los cálculos se llevaron a cabo en ventanas de 5 segundos (los detalles serán descritos en los siguientes apartados).

Análisis de los Componentes Independientes (o ICAs del inglés Independent Component Analysis)

El objetivo principal del análisis de componentes independientes (ICAs) es separar, de manera ciega (T. P. Jung et al., 2000) un número de fuentes de señales independientes (n). Los sensores, en nuestro caso puntos de registro de señal eléctrica, captan una señal (m) que resulta ser una suma de las diversas fuentes (n). Es importante destacar que, el número de fuentes siempre será menor o igual al número de sensores que captan la señal ($n \leq m$. López-Madrona et al., 2020; López-Madrona & Canals, 2021).

Este método se ha utilizado durante mucho tiempo en registros de EEG para eliminar componentes que aportan ruido a la señal electrofisiológica, como pueden ser la actividad cardiaca o el parpadeo de los ojos (T. P. Jung et al., 2000). Aunque su uso en registros intracerebrales es menos habitual en comparación con los registros superficiales de tipo EEG, su eficacia ha sido demostrada para separar fuentes de señal locales o remotas en los LFPs (Makarov et al., 2010; Herreras et al., 2015; Ortuño et al., 2019; Torres et al., 2019).

Cada LFP registrado, $u_m(t)$, será representado como el sumatorio de n fuentes o componentes independientes, $s_n(t)$, multiplicado por un factor constante de pesos (V_{mn}) en una matriz de n filas y m columnas. Cada uno de los componentes valores de la matriz representa la contribución del voltaje de la fuente n al sensor m (Herault & Jutten, 1986; López-Madrona & Canals, 2021), tal y como refleja la siguiente ecuación:

$$u_m(t) = \sum_{n=1}^N V_{mn} s_n(t), \quad m = 1, 2, \dots, M$$

Para facilitar la interpretación del análisis de componentes independientes se emplean ejemplos de entornos naturales en los que hay muchas fuentes sonoras a los que atender simultáneamente. Este es el caso del llamado “*The cocktail party problem*” (McDermott, 2009), donde se representa una fiesta con múltiples asistentes y, por tanto, mucha información auditiva de múltiples orígenes (Explicado en el pie de la **Figura MM.8**).

En este tipo de situaciones, se plantea la tarea de atender/oír un solo sonido de interés, por lo que el oyente se enfrenta a un reto: la segregación de sonidos. Los sonidos de la escena auditiva se suman para generar la señal que llega al oído, pero esta mezcla de sonidos es poco útil para el cerebro, por lo que el sistema auditivo debe discriminar los sonidos individuales a partir de la mezcla (McDermott, 2009).

Existen varios algoritmos que se utilizan para obtener los componentes independientes resultantes y su matriz de pesos. En esta Tesis, se ha utilizado el enfoque de maximización de la información o RUNICA (desarrollado por A. J. Bell & Sejnowski, 1995), implementado en el paquete EEGLAB de MATLAB®, desarrollado por Delorme & Makeig (2004) a partir de sus propios trabajos (Makeig et al., 1995, 1997).

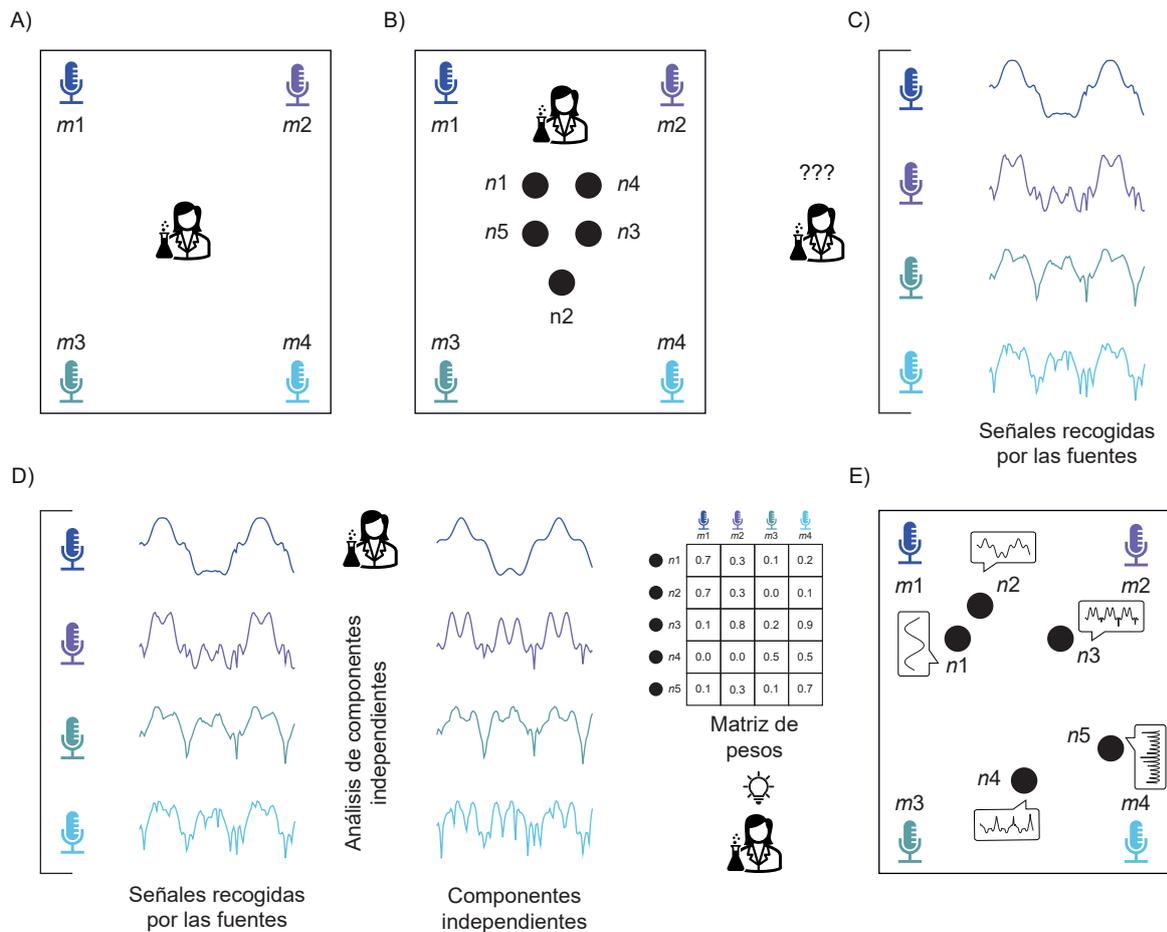


Fig. MM.8: “The cocktail party problem” y su relación con la extracción de componentes independientes. Imaginemos que un investigador coloca en la fiesta diferentes micrófonos (4 en total; $m1$ hasta $m4$) por la sala con el fin de averiguar donde se situarán las personas invitadas (5 en total, desde $n1$ hasta $n5$) a lo largo de la sala (A). Tras la colocación de los micrófonos, el investigador hace pasar a los invitados y les explica que, durante toda la noche pueden moverse libremente por la sala (B). Una vez se ha acabado la fiesta, el investigador quiere conocer la localización espacial de las personas que han estado presentes. Sin embargo, al ir analizar las grabaciones de los micrófonos se encuentra con que las señales acústicas están mezcladas y que todos los micrófonos han recogido en mayor o menor medida la voz de los 5 invitados (C). Para solucionar este problema el investigador recurre al análisis de componentes independientes y tras aplicarlo obtiene 4 componentes independientes ($s_n(t)$) y la matriz de pesos de cada uno de estos (V_{mn} D). Tras observar la matriz y la asignación de pesos, el investigador se da cuenta que $n1$ y $n2$ estuvieron hablando cerca del primer micrófono ($m1$); $n3$ estuvo cerca del micrófono $m2$; $n5$ al lado del micrófono $m4$ y por último $n4$ estuvo entre los micrófonos $m3$ y $m4$ (E).

Por último, es importante señalar que a partir de este análisis se obtuvieron los componentes independientes de la señal captada por los electrodos situados en HPCd y vmPFC para todos y cada uno de los análisis electrofisiológicos de los experimentos III y V. Es muy importante destacar que, a pesar de haber utilizado el componente principal y no el LFP original, la validez de los análisis sigue siendo alta, ya que la matriz de pesos obtenida asignó mucho peso a una sola de las fuentes recogidas y muy poco a las otras, lo que indica que el componente principal obtenido, corresponde principalmente esa fuente. Además, el análisis de los componentes principales, ayudó a limpiar la señal recogida por los electrodos y a obtener una señal más pura de cada una de las fuentes.

Análisis de estados

Como se ha descrito en la introducción, en la depresión se observan síntomas durante la vigilia pero también se encuentra alterada la estructura del sueño. De manera similar, se han visto efectos particulares de la ketamina sobre la actividad cerebral según si el individuo está despierto o dormido. Además, también hemos contado en la introducción, como de importante es la descripción de biomarcadores durante la vigilia para poder estudiarlos en pacientes y no tener que recurrir a los estudios del sueño, que son más costosos y les resultan más agresivos (Nugent et al., 2017). Por todo ello, en nuestro trabajo nos planteamos como objetivo poder estudiar la actividad neuronal de las áreas de interés en los experimentos III y V en cada momento del ciclo sueño-vigilia.

Dado que los registros electrofisiológicos realizados en estos experimentos tenían una duración aproximada de 2.5 horas, los animales pasaban en este tiempo por ambos estados, vigilia y sueño. Siendo, por tanto, posible este análisis en ambos estados, pero se hacía necesario un método de detección objetiva y automatizada del binomio vigilia/sueño en los animales a lo largo del registro. Por ello, elaboramos un algoritmo capaz de clasificar cada ventana de 5 segundos en vigilia o sueño. Además, el estado de vigilia fue subclasificado como vigilia tranquila, donde el animal está despierto, pero en reposo, o vigilia activa, con el animal despierto y en movimiento. A su vez, en el estado de sueño se distinguió entre sueño REM y sueño de onda lenta, lo que en inglés se conoce como SWS (*Slow Wave Sleep*). Globalmente, a cada uno de estos estados se les asignó las etiquetas [1] al SWS, [2] al sueño REM, [3] a la vigilia tranquila y [4] a la vigilia activa.

Este análisis se llevó a cabo aplicando rutinas propias desarrolladas en MATLAB® sobre el componente principal obtenido a partir del electrodo situado en HPCd (**Figura MM.9A** superior). El algoritmo implementado se empleó también en la señal electromiográfica de los músculos nucales (EMG. **Figura MM.9A** inferior), capaz de extraer el tono muscular, y la proporción de oscilaciones lentas/theta y oscilaciones gamma. Así, en la vigilia activa se muestra un menor tono muscular que en vigilia tranquila, y aún menor en el sueño. Las oscilaciones gamma en la vigilia tienen una mayor presencia que la mostrada en el sueño. Además, en el SWS, se da una mayor proporción de oscilaciones lentas (0.5-5 Hz), en comparación con el sueño REM, con una predominancia de las frecuencias de rango theta (5-10 Hz). Este algoritmo se elaboró en base a bibliografía previa (Stephenson et al., 2009), comprobando a través de los registros de vídeo que los resultados de la clasificación se correspondían con lo que se observaba en las grabaciones, y revisando que las distribuciones de potencias de los estados obtenidos al aplicar el algoritmo eran coherentes con lo esperado para cada estado, mediante la observación de espectros de potencia y de espectrogramas *wavelet*.

Los detalles del algoritmo de clasificación se describen a continuación. En primer lugar, se emplearon los valores del EMG para hacer una primera clasificación en estados, de cada ventana de 5 segundos, a partir del tono muscular. La señal fue filtrada mediante un filtro *notch* de 50 Hz, comúnmente producido por la red eléctrica. La señal filtrada fue entonces normalizada a puntuación Z (media 0, desviación típica ± 1). A partir de este primer preprocesamiento, se calculó su amplitud instantánea para cada ventana de 5 segundos, mediante la transformada de Hilbert. En la **Figura MM.9B** se observa una representación de los valores de amplitud instantánea del EMG a lo largo de todo un registro. Sobre la distribución de los valores de amplitud se aplicaba un ajuste gaussiano con la intención de obtener 3 distribuciones de los valores mayores de EMG, que se corresponderían con los estados de vigilia activa; valores intermedios, propios de la vigilia tranquila; y valores más bajos, propios del sueño, respectivamente (**Figura MM.9C** izquierda). En este punto, los valores comprendidos dentro de la distribución

de vigilia activa fueron etiquetados como [4], aquellos del rango de vigilia tranquila como [3] y los de sueño como [1] (Figura MM.9D superior izquierda).

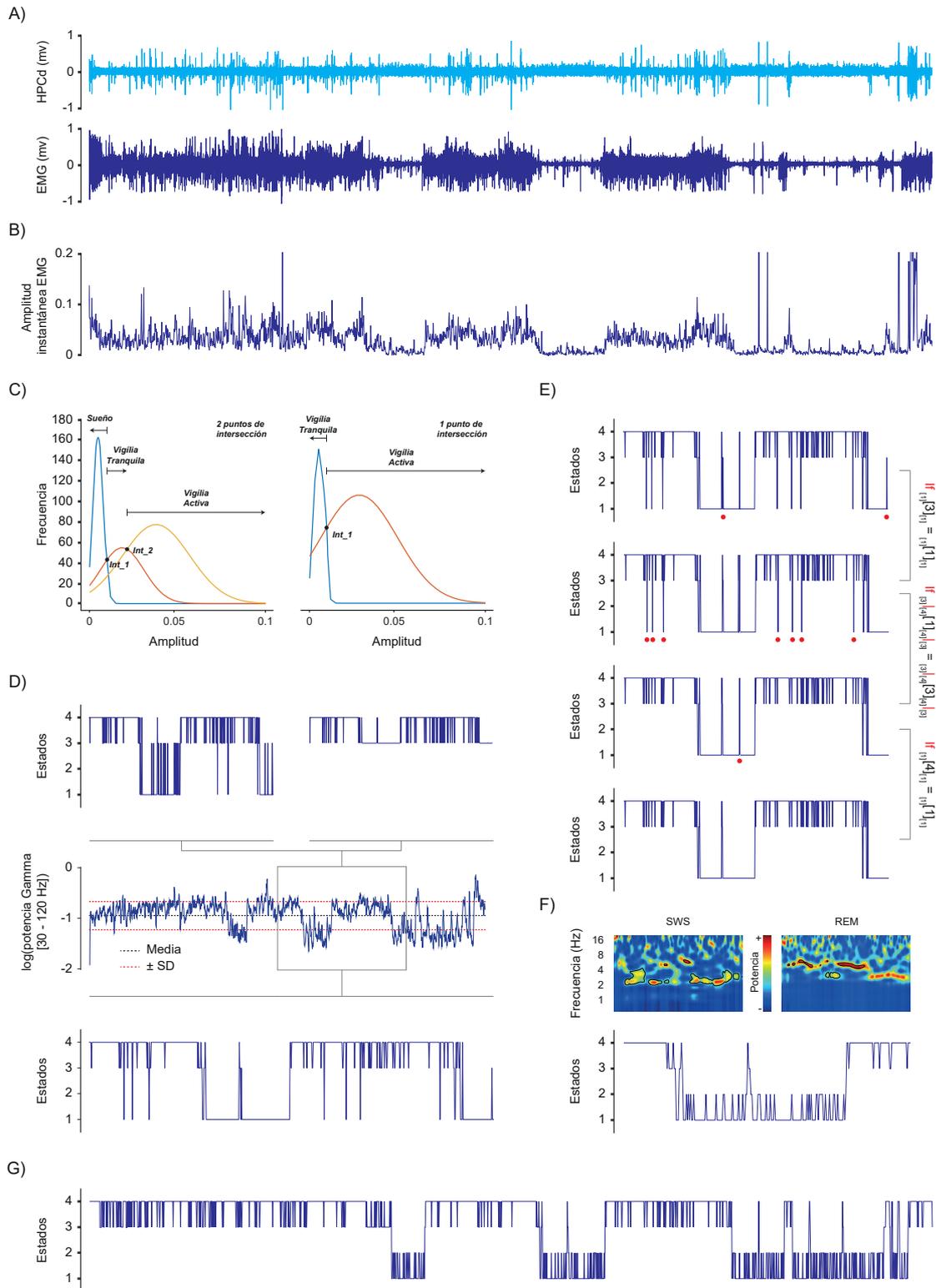


Fig. MM.9: Clasificación de estados mediante las señales de HPCd y EMG. (Continúa en la página siguiente).

Fig. MM.9: (Continuación). **A)** Señales de HPCd (Componente independiente del HPCd. Imagen superior) y del EMG (Señal original del EMG. Imagen inferior) de un registro completo. Ambas señales fueron normalizadas a puntuación Z (media 0, $SD \pm 1$). **B)** Representación de la amplitud instantánea de cada ventana de 5 segundos, calculada a través de la transformada de Hilbert, de la señal de EMG representado en el apartado A de la figura. Se observan periodos con mayor amplitud, es decir, mayor tono muscular, y periodos con menor amplitud, es decir, menor tono muscular. **C)** Ajuste gaussiano de los valores obtenidos en la amplitud instantánea en cada una de las ventanas de 5 segundos. En este paso podían darse dos posibilidades. La primera de ellas es que todos los valores de amplitud instantánea del registro pudieran clasificarse en tres distribuciones diferentes y se obtuvieran 2 intersecciones (figura izquierda), o que el ajuste únicamente se pudiera realizar a dos distribuciones las cuales tenían únicamente un punto de intersección (figura derecha). **D)** La intersecciones permitían clasificar cada una de las ventanas de 5 segundos en diferentes estados. Si se obtenían 2 intersecciones se podían clasificar los registros en 3 estados: vigilia activa (con una amplitud instantánea superior a la intersección 2 [int_2]), vigilia tranquila (con una amplitud instantánea situada entre las intersecciones 1 [int_1] y 2 [int_2]) y sueño (con una amplitud instantánea menor a la intersección 1 [int_1]. Figura superior izquierda). Por el contrario, si únicamente se obtenía una intersección, las ventanas de 5 segundos eran clasificadas como: vigilia activa (con una amplitud instantánea superior a la intersección) y la tranquila (con una amplitud instantánea inferior a la intersección. figura superior derecha). Tras el primer etiquetaje de estados se calculó la potencia de las oscilaciones gamma (30-120 Hz) de cada una de las ventanas de 5 segundos del registro (figura media). El uso de la potencia gamma permitió reetiquetar en el caso de 3 distribuciones, aquellas ventanas previamente clasificadas como sueño pero que debían ser vigilia y, y el sueño en el caso de dos distribuciones. **E)** Se utilizó al función condicional “If” para reetiquetar algunas de las ventanas de 5 segundos que podían haber sido erróneamente etiquetadas (puntos de color rojo bajo las etiquetas). **F)** La clasificación del sueño SWS y REM se realizó a través de espectrogramas *Wavelet* (figura superior). En cada uno de estos espectrogramas (realizados sobre ventanas de 5 segundos etiquetadas como sueño) se identificó y marcó las regiones donde la potencia theta era superior al 75% y la potencia SW era superior al 25%. Tras esto se calculó una ratio delta/theta y se clasificaron las ventanas en función de la ratio obtenida (< 1 , sueño REM; > 1 , SWS, figura inferior). **G)** Análisis de estados de un registro completo.

En algunos casos, la aplicación de este ajuste daba como resultado solo dos distribuciones (**Figura MM.9C** derecha). En estos casos se comprobó en los vídeos que aquellas ventanas con valores de EMG altos, se correspondían a momentos en los que el animal estaba en movimiento, por lo que fueron etiquetados como vigilia activa [4]. En las ventanas con valores de EMG menores, el animal estaba en reposo, sin poder discernir si estaba despierto o dormido. Por ello, se le asignó temporalmente la categoría de vigilia tranquila [3] (**Figura MM.9D** superior derecha).

A continuación, se calculó la potencia de las frecuencias gamma (entre los 30 y los 120 Hz; explicado en la sección “Análisis de la potencia: La Transformada rápida de Fourier” de la metodología) en cada ventana de 5 segundos de la señal de HPCd (filtrada y normalizada de la misma manera que la del EMG), obteniéndose el valor medio de esta potencia (**Figura MM.9D** central). Este valor se empleó siguiendo el criterio:

- En el caso de haber obtenido un ajuste gaussiano bimodal de los valores de amplitud instantánea del EMG, para discriminar aquellas ventanas previamente clasificadas como vigilia que pudiesen corresponder con sueño, se determinó si la potencia gamma era inferior a su valor medio, en cuyo caso, las ventanas fueron reetiquetadas como [1] (**Figura MM.9D** inferior).
- En el caso de haber obtenido un ajuste gaussiano trimodal, aquellas ventanas previamente catalogadas como [1], pero con valores de gamma superiores a la media eran reasignadas como [3]; y aquellas previamente etiquetadas como [3] con valores de gamma inferiores a la media eran reasignadas a [1] (**Figura MM.9D** inferior).

Comprobamos que, en aquellos registros con ajustes significativos a tres gaussianas, el ajuste a dos gaussianas y la aplicación de los pasos descritos previamente daba lugar a la misma clasificación. Es decir, que la obtención de 2 o 3 gaussianas llevaba a la misma clasificación,

pero con mayor número de pasos.

Tras este primer procesado, se llevaron a cabo las siguientes correcciones: las ventanas de 5 segundos etiquetadas como sueño [1] que se encontraban entre valores de vigilia (activa [4] o tranquila [3]) se reetiquetaban como vigilia tranquila [3] y aquellas clasificadas como vigilia, pero comprendidas dentro de periodos de sueño, se reclasificaban como sueño [1] (**Figura MM.9E**).

Tras este paso, si aún se observaban etiquetas de las que se sospechaba una clasificación errónea, como por ejemplo, periodos de sueño de no más de 15 segundos situados entre vigilia, se comprobaba en el vídeo la conducta de los animales durante estos, y si era necesario, se reetiquetaba manualmente.

Por último, el sueño [1] fue subdividido en 2 estados: sueño de ondas lentas [1] y sueño REM [2]. Para asignar estas dos nuevas etiquetas se realizaron espectrogramas *wavelet* (explicado en la sección “La potencia a través del tiempo: análisis *wavelet*” de la metodología) de cada ventana que había sido etiquetada como sueño [1]. En cada una de ellas se detectó el número de regiones en las que la potencia de las frecuencias delta (0.5-5 Hz) superaba el umbral del 25 % respecto al total de la banda del espectrograma *wavelet* (0-30 Hz) y del 75 % para las frecuencias theta (5-10 Hz). Tras este paso, se calculó la ratio delta/theta, adoptando como criterio que, si el valor era mayor o igual a 1, la ventana era etiquetada como sueño de onda lentas [1]; si la ratio era menor que 1, la ventana era etiquetada como sueño REM [2] (**Figura MM.9F**). Tras todos estos pasos finalmente se conseguía una clasificación de estados para todo el registro electrofisiológico (**Figura MM.9G**).

El código utilizado para clasificar los estados se encuentra detallado y explicado en el **Anexo I**.

Análisis de la potencia: la Transformada rápida de Fourier

La actividad neural oscilatoria puede ser considerada como la suma de diferentes ondas sinusoidales de diferentes frecuencias y amplitudes, formando así una señal compleja, como el LFP (**Figura MM.10**). Los métodos de Fourier permiten realizar la descomposición de la señal original en sus componentes sinusoidales y representar la contribución de cada componente a la señal original (potencia o energía). De este modo, con la Transformada de Fourier se consigue obtener la potencia de cada componente en el dominio de las frecuencias. En concreto, en esta Tesis se empleó la transformada rápida de Fourier (FFT o “*Fast Fourier Transform*”; Cooley & Tukey, 1965), que es una optimización de la transformada discreta de Fourier (DFT o “*Discrete Fourier Transform*”).

A través de este cálculo se obtienen espectros de potencia (**Figura MM.10**), es decir, la distribución de la señal en el dominio de las frecuencias, que nos permitirá calcular la potencia absoluta de las diferentes bandas de frecuencia. Esta se calculará a través de la integral definida en el dominio de las frecuencias elegidas; en nuestro caso, el área bajo la curva, al tener una serie temporal discreta derivada del muestreo de la señal. La estimación de la densidad espectral de las potencias se realiza mediante el método Welch (Welch, 1967). Este método se basa en el cálculo de la media de n espectros de potencia obtenidos de cada una de n divisiones de la ventana de interés, lo que daría lugar al suavizado del espectro de potencia final.

Por último, a través de los espectros de potencia también se pudieron determinar los valores de potencia máximos de las bandas de interés, o picos de frecuencia. En nuestro caso, el máximo de nuestro espectro de potencia es definido como el valor en el que la curva cambia su tendencia de crecimiento a decrecimiento.

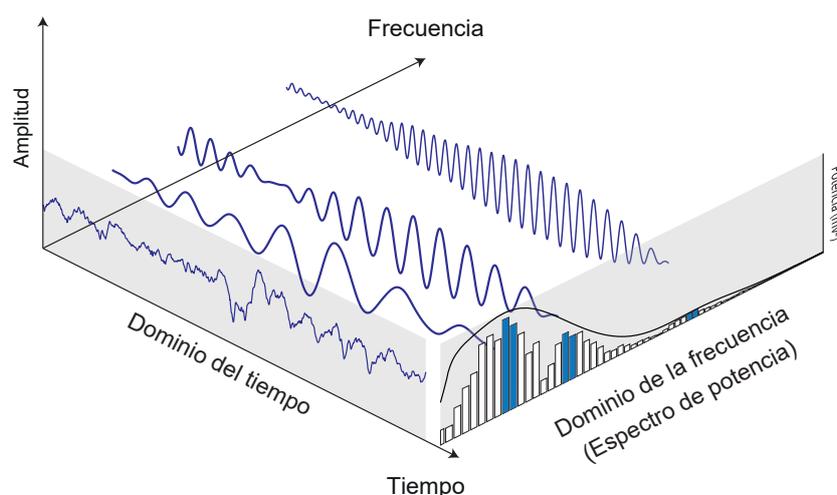


Fig. MM.10: Análisis de la potencia a través de la transformada de Fourier. La señal compleja obtenida en los registros puede ser descompuesta en las frecuencias de interés a través de la transformada de Fourier. Además, también es posible calcular la potencia de cada una de las frecuencias y reflejar estos resultados a través de un espectro de potencia. En el espectro de potencia, cada una de las barras refleja la potencia de ese rango oscilatorio.

Las frecuencias analizadas en los LFP fueron clasificadas de diferentes modos según los objetivos del experimento. Brevemente, se consideraron como ondas lentas (SW) aquellas frecuencias por debajo de los 3 Hz (compuestas por las oscilaciones delta y las SW propiamente dichas); theta, entre 3-12 Hz (dividida a su vez en theta bajo [3-6 Hz] y alto [6-12 Hz]); beta, entre 12-30 Hz; gamma, todas aquellas superiores a 30 Hz e inferiores a los 120 Hz (dividida a su vez en gamma bajo [30-60 Hz], medio [60-80 Hz] y alto [80-120 Hz]) y HFO, entre los 120-200 Hz.

Determinación de los periodos de análisis a través de los espectros de potencia: análisis de componentes principales y agrupación de clústers

Uno de los retos fundamentales a la hora de analizar los datos en el experimento III es que, así como podríamos presumir homogeneidad en la actividad a lo largo de los registros en los que a los animales no se les ha inyectado ningún fármaco (basal, vehículo, 24 horas y 7 días), en el caso del día en que se administra ketamina tendrán lugar cambios en la actividad en el dominio del tiempo que desconocemos y que ni siquiera tiene por qué ser igual entre las áreas registradas.

Esto hace necesario desarrollar un método para subdividir estos registros en periodos de tiempo objetivos en relación a la dinámica temporal propia del efecto de la ketamina. Para ello se llevó a cabo un análisis de clústers sobre los periodos de 10 minutos consecutivos en que se puede fraccionar cada registro de 2.5 horas (15 periodos) para determinar periodos de tiempo que compartan una actividad eléctrica común/coherente, y diferente a la de los otros periodos (o clústers), lo que reflejará la temporalidad real de los efectos de la ketamina en cada estructura.

En resumen, para cada registro se calculan los espectros de potencia de todas las ventanas de vigilia tranquila [3] y a partir de la matriz resultante se obtendrán las distribuciones espectrales mediante un análisis de los componentes principales (PCA) y de componentes independientes (ICA), tal y como se ilustra en la **Figura MM.11A** (izquierda). Y será la similitud a estas distribuciones espectrales de los espectros de potencia medios de todos los estados [3] de cada

periodo de 10 minutos, lo que se emplea como criterio para la determinación de los clústers.

Análisis de los Componentes principales

El proceso que se describirá a continuación realizó para cada animal y para cada registro (basal, vehículo, ketamina, día siguiente y semana). Hay que tener en cuenta que, a partir del día de la administración de ketamina se subdividen los animales en dos grupos experimentales según la dosis. Por lo tanto, se obtuvieron un total de 8 matrices: una para el registro basal, otra para el vehículo y dos para cada uno de los días siguientes en función de la dosis recibida.

El primer paso fue determinar todos los espectros de potencia de cada una de las ventanas de vigilia tranquila[3] (n) de todos los animales (m), obteniendo así un conjunto de $n \times m$ espectros. A continuación se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA) sobre este conjunto de espectros de potencia y se determinaron los componentes principales (PC), con el propósito de identificar patrones comunes de variabilidad en la distribución espectral de la señal.

Para obtener los PC (L. I. Smith, 2002; Ringnér, 2008; Lever et al., 2017) partimos de una muestra de n conjuntos de datos, formado cada uno con un conjunto de p variables (X_1, X_2, \dots, X_p), es decir, el espacio muestral del conjunto de datos tiene $p \times n$ dimensiones. El PCA permitirá encontrar un conjunto de factores subyacentes (Z o también llamado componente principal) que explicarán lo mismo, o de manera aproximada, que las variables p originales (siendo en todos los casos $Z \leq p$). De este modo, donde antes eran necesarias un conjunto de X_p variables, tras el análisis solamente es necesario Z variables, es decir, es un método de reducción de dimensiones.

El cálculo de cada componente principal (Z_i) se realiza a través de la combinación lineal de las variables originales y se puede entender como el sumatorio y la combinación determinada de las variables (X_p), donde la posición o el orden de estas variables viene determinada por la varianza (φ también conocida como *loading* de la variable), aportada al modelo:

$$Z_1 = \phi_{11}X_1 + \phi_{21}X_2 \dots \phi_{p1}X_p$$

Además, la combinación lineal estará normalizada, lo que implica que el sumatorio de la varianza, elevada al cuadrado, debe ser igual a 1, es decir, el total de la suma de las variables debe explicar el componente principal:

$$\sum_{j=1}^p \phi_{j1}^2 = 1$$

Tras el cálculo del primer componente (Z_1) se calcula el segundo (Z_2), repitiendo el mismo proceso hasta llegar a $Z_{\min(n-1,p)}$, donde $\min(n-1,p)$ representan todas las formas existentes de componentes, añadiendo la condición de que las combinaciones lineales no pueden estar correlacionadas con la componentes anteriores, es decir, todas deben ser perpendiculares.

Atendiendo al PCA, los componentes son ordenados por la variabilidad que explican, de tal modo que el primer componente es aquel que explica la mayor variabilidad (Johnson & Wichern, 2007; Ringnér, 2008; Jolliffe & Cadima, 2016). Por ejemplo, si los primeros componentes principales estuviesen altamente correlacionados con ciertas bandas de frecuencia, esto puede

indicar la presencia de ciertas características espectrales que son comunes en la señal. Se pueden determinar como PC aquellos que en conjunto explican un porcentaje muy elevado de la variabilidad de la señal. Por ejemplo, en nuestro caso, los primeros 4 explicaban, como mínimo, el 87 % de la varianza.

Ahora bien, si a continuación extraemos los componentes independientes de los PC, podremos identificar las diferentes fuentes que contribuyen a la variabilidad de la señal en términos de su estructura espectral. Esto puede ayudar a comprender mejor la naturaleza de la señal y a identificar las características que son más relevantes en el conjunto de los espectros de potencia (Lopes-dos-Santos et al., 2018). Estos componentes independientes, a los que denominaremos “distribuciones espectrales” serán espectros de potencia representativos del conjunto completo de los $n \times m$ espectros, ya que explican la señal y representan las características espectrales más importantes de ésta.

Esta secuencia de métodos de análisis de componentes fue aplicada mediante la función RUNICA (Delorme & Makeig, 2004), implementada en MATLAB[®]. Aún siendo un código destinado a la extracción de los componentes principales de una serie temporal, el propio algoritmo incluye la aplicación de los componentes principales como primer paso del análisis.

Uso de los componentes principales e independientes para la determinación de periodos de análisis en el experimento III

En nuestro caso, como se ha adelantado en el apartado anterior, obtuvimos 4 distribuciones espectrales para cada día de registro que en conjunto explicaban más del 87 % de la varianza. Estas se utilizaron para comparar y clasificar, mediante métodos de *clustering*, el patrón de actividad cerebral (**Figura MM.11A** derecha) tal y como se explicará a continuación.

Tras la obtención de las distribuciones espectrales, se subdividió cada registro en periodos de 10 minutos consecutivos y, de cada uno, se obtuvo el espectro de potencia de todas las ventanas de vigilia tranquila [3] que contuviera, y a continuación se promediaron. Esto se hizo para cada animal, de manera que a continuación se realizó una media de medias, es decir, una media del promedio de cada animal de los espectros de potencia de todos los estados [3]. Así, de cada día se obtienen 15 espectros de potencia promedio (2.5 horas divididas en periodos de 10 minutos): 15 basales, 15 salinos, y a partir de aquí se duplican cada día porque separamos en el grupo que recibe ketamina a 5 mg/kg, del que la recibe a 30 mg/kg (**Figura MM.11B**).

A partir de ahí, estos espectros de potencia promedio diarios se compararán con las 4 distribuciones espectrales de su día de registro determinando así la similitud existente entre cada espectro de potencia medio con las distribuciones espectrales representativas. Este grado de similitud se emplea como variable para agrupar los periodos de 10 minutos entre sí, con el fundamento de que tendrán actividades eléctricas también más similares entre ellas (**Figura MM.11B**).

En concreto, la comparación entre ambos vectores de datos se realizó a través de la distancia de la proyección del coseno. Este método es especial interesante para vectores de signo positivo y de alta dimensión o longitud, como son los nuestros (K. K. George et al., 2015), y se realiza a través de la siguiente fórmula:

$$F_{Dsp}(A, B) = \cos(\theta) = \frac{A \cdot B}{\|A\| \cdot \|B\|} = \frac{\sum_{i=1}^n A_i \cdot B_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^n A_i^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n B_i^2}}$$

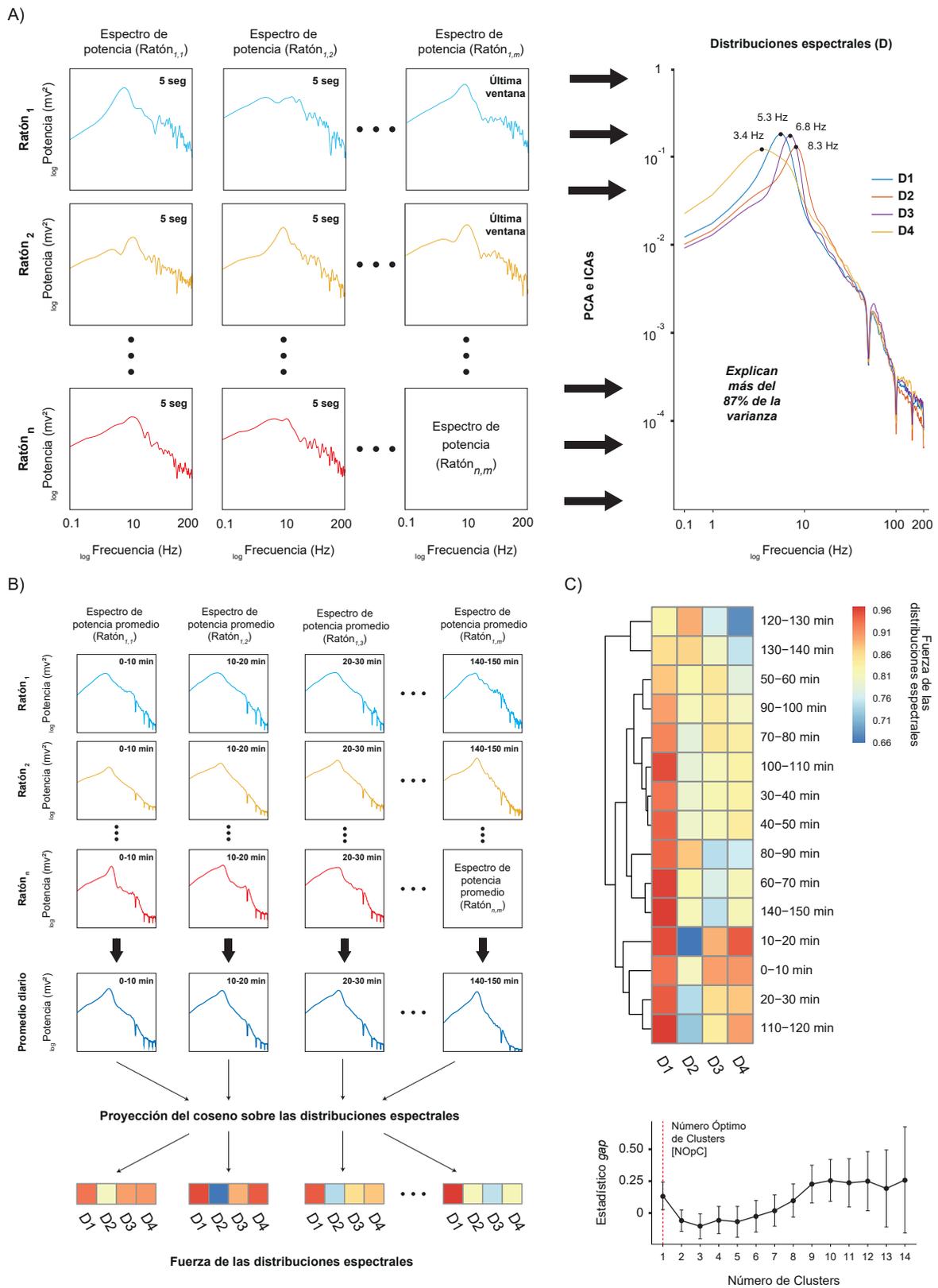


Fig. MM.11: Determinación de los periodos de tiempo de análisis de cada registro mediante la aplicación de métodos de *clustering*. (Continúa en la página siguiente).

Fig. MM.11: (Continuación). A) En primer lugar se obtienen los espectros de potencia de las ventanas de vigilia tranquila [3] de todos los animales y para cada día de registro (cuadrados situados en la parte izquierda de la figura. Cada fila representa a un ratón diferente [hasta el total de los animales de cada día] y cada columna el espectro de potencia de cada ventana de 5 segundos de ese mismo animal [hasta el final de su registro]). Todos estos espectros de potencia fueron incluidos en una matriz de datos sobre la que se realizó un análisis de componentes principales (PCA) y de componentes independientes (ICAs). De estos análisis se obtuvieron 4 distribuciones espectrales que explicaban al menos 87% de la varianza (figura situada en la parte derecha). En el caso de los de los registros basales y vehículo para este análisis se emplearon todos los espectros de potencia de los animales, indistintamente de la dosis que fueran a recibir posteriormente. Para el resto de los registros (administración de ketamina, 24 horas y 7 días) se utilizaron únicamente los registros de aquellos animales que habían recibido su dosis correspondiente. **B)** Los espectros de potencia de las ventanas de vigilia tranquila contenidos en intervalos de 10 minutos desde el inicio hasta el fin del registro fueron promediados (cuadrados situados en la parte superior de la figura; cada fila representa a un ratón diferente [hasta el total de los animales de cada día] y cada columna el espectro de potencia promedio de cada intervalo de 10 minutos [hasta el final de su registro]). A su vez estos valores fueron promediados con los obtenidos para el resto de los animales, creando así un espectro de potencia promedio diario para cada ventana de 10 minutos (cuadrados situados en la parte media de la figura; la fila representa cada uno de los espectros de potencia diarios de los ratones y cada columna este espectro de potencia promedio diario de cada intervalo de 10 minutos). Cada uno de los espectros de potencia diarios fue comparado, a través de la proyección del coseno, con las cuatro distribuciones espectrales obtenidas y se obtuvo la similitud, o “fuerza de las distribuciones espectrales”, de cada uno de los espectros de potencia diarios. **C)** El conjunto de valores de la “fuerza de las distribuciones espectrales” fueron agrupados dentro de un *heatmap*, donde cada color representa el valor de la fuerza de cada una de las distribuciones espectrales para cada intervalo de 10 minutos de tiempo (siendo aquellos colores más cálidos los valores más altos de la fuerza de la huella espectral y los azules los más bajos). A partir de aquí, a través de métodos de *clustering* (estadístico “*gap*”) se calculó el número de clústers óptimos o divisiones del *heatmap* lo que en realidad se corresponde con los periodos de tiempo con un actividad homogénea y diferente a la del resto. Esta estructura temporal refleja la dinámica en que tienen lugar los cambios originados por la administración de ketamina y será la empleada en el experimento III para estudiar la actividad de las estructuras de interés. En el ejemplo de esta figura el estadístico “*gap*” indicó que el número de clústers óptimo era 1.

Donde $A \cdot B$ representa el producto escalar de los vectores A (el espectro de potencia promedio que queremos comparar) y B (los vectores de las distribuciones espectrales) dando finalmente como resultado la distancia entre un valor de esta distancia de proyección del coseno que a partir de ahora definiremos como “fuerza de las distribuciones espectrales” o F_{Dsp} , entre el espectro de potencia promedio y cada una de las 4 distribuciones espectrales.

A continuación, el conjunto de valores de la fuerza de las distribuciones espectrales se representó en un *heatmap*, donde se observa cada intervalo de los 10 minutos de tiempo (**Figura MM.11C** superior, eje vertical), las 4 distribuciones espectrales (**Figura MM.11C** superior, eje horizontal) y la fuerza o similitud de los espectros de potencia medios con los 4 componentes espectrales (**Figura MM.11C** superior, escala colorimétrica).

A través de este método, los periodos de tiempo son agrupados en clústers según las semejanzas o diferencias de los patrones de las distribuciones espectrales. En concreto, para conseguir la clasificación de los *heatmaps* se calculó la fuerza de agrupamiento (o el índice cofenético) de sus dendrogramas, a través del método de agrupamiento jerárquico o *hierarchical clustering* y más concretamente, a través de los métodos *agglomerative clustering*. En estos métodos, el agrupamiento se inicia desde la base del dendrograma, donde cada observación forma un clúster individual que se van combinando (de abajo a arriba) a medida que la estructura crece, hasta converger en una única “rama” central del dendrograma.

Dentro del método *agglomerative clustering* existen diversas variantes de agrupación (distancia máxima [**Figura MM.12A**], mínima [**Figura MM.12B**], promedio [**Figura MM.12C**] y centroide [**Figura MM.12D**]; Murtagh & Contreras, 2012) reflejados y explicados en la **Figura MM.12**.

En nuestro caso, se calculó el índice cofenético para cada uno de los métodos de agrupamiento de clústers, anteriormente citados, eligiendo el método que obtuvo, en todos los casos, el valor más alto: la agrupación promedio.

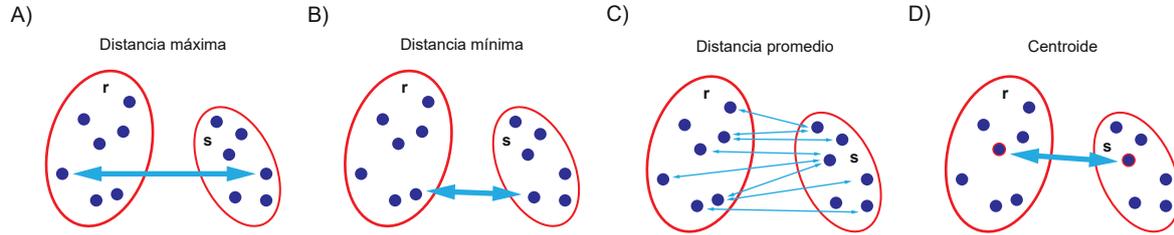


Fig. MM.12: Métodos de agrupamiento de clústers. **A) Distancia máxima:** se calcula la distancia entre todos los clústers r y s , y se selecciona la mayor de todas ellas. **B) Distancia mínima:** se calcula la distancia entre todos los clústers r y s , y se selecciona la menor de todas ellas. **C) Distancia promedio:** se calcula la distancia entre todas las posibles comparaciones de datos entre los clústers r y s , y se selecciona la media de todas las distancias. **D) Centroide:** se calcula el centroide de los agrupamientos de los clústers r y s , y se utiliza la distancia entre ellos como medida de validación. Figura adaptada de Murtagh & Contreras (2012).

Por último, con el fin de obtener los perfiles temporales de las oscilaciones cerebrales y sus divisiones, se llevaron a cabo métodos de *clustering* los cuales permiten encontrar un número óptimo de divisiones significativas dentro del *heatmap*. En concreto, el método utilizado fue el método “*gap*” (Figura MM.11 inferior. Tibshirani et al., 2001; James et al., 2013). Este estadístico compara la varianza total intra-clúster (W_{kb}), a través de un número de simulaciones aleatorias ($B = 500$) y encuentra, entre todas ellas, un valor (k o valor de división del clúster) con el que se consigue maximizar el estadístico “*gap*”:

$$gap(k) = \frac{1}{B} \sum_{b=1}^B \log(W_{kb}) - \log(W_k)$$

Es decir, el número de clústers óptimos es aquel para el que el valor k se aleja menos de una desviación típica (s_k) del valor “*gap*”:

$$gap(k) \geq gap(k + 1) - s_{k+1}$$

Una vez obtenido el número de clústers óptimo [NoCP], en el experimento III, para cada día de registro se obtuvieron los valores promedio de cada intervalo temporal (delimitados por la longitud temporal del clúster y únicamente de las ventanas de vigilia tranquila) de las variables electrofisiológicas explicadas en los siguientes apartados. En el experimento V también se calculó el promedio de las variables electrofisiológicas, sin embargo, al no existir clústers que delimitasen la actividad oscilatoria, el promedio se realizó con los valores de todo el registro.

Sobre estos promedios se calculó el porcentaje de cambio respecto de la puntuación basal de cada animal a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de cambio} = \frac{(\bar{X} \text{ de la variable electrofisiológica}) \cdot 100}{\bar{X} \text{ de la variable electrofisiológica en su registro basal}}$$

De las puntuaciones basales también se obtuvo un porcentaje de cambio, sin embargo, a diferencia del resto de días, se relativizó a la media de las puntuaciones basales:

$$\% \text{ de cambio} = \frac{(\bar{X} \text{ de la variable electrofisiológica en su registro basal}) \cdot 100}{\bar{X} \text{ de la variable electrofisiológica de todos los animales en el registro basal}}$$

La potencia espectral en el dominio del tiempo: análisis wavelet

La aproximación al estudio de las frecuencias a través de los cálculos de la FFT presenta la limitación de proporcionar una imagen estacionaria de la estructura espectral de una serie temporal sin tener en cuenta la dimensión temporal. Esto es, la FFT aplica y solapa ventanas temporales con el objeto de localizar las frecuencias en el tiempo, pero esto presenta el inconveniente de una baja resolución, que viene dada por el tamaño fijo de la ventana y de su solapamiento. A pesar de que el solapamiento de ventanas reduce este problema, no se resuelve por completo (Guerrero et al., 2014. **Figura MM.13A**).

Para analizar las propiedades oscilatorias de una serie temporal en el dominio tiempo-frecuencia resulta muy conveniente utilizar la transformada de *wavelet* continua (CWT). La idea básica detrás de la transformada de *wavelet* es la comparación de tramos discretos de la señal una función particular denominada como función *wavelet* u “ondícula”. Con esta comparación se consigue atribuir al tramo de la serie temporal las características ondulatorias de la función *wavelet* que se utiliza, después de ajustarla mediante un escalado de la misma. Las CWT, también denominadas *wavelet* de escala y traslación, son una extensión de la idea de *wavelet* discreta (Torrence & Compo, 1998) utilizadas para analizar señales continuas en el tiempo y la frecuencia, lo que permite un análisis más detallado y preciso, en comparación con las *wavelets* discretas.

Que la CWT sea tan oportuna para la descripción de señales oscilatorias en el dominio tiempo-frecuencia se debe principalmente a dos propiedades: la traslación y la dilatación. La propiedad de traslación permite el movimiento de las *wavelets* a lo largo del tiempo, proporcionando la resolución o desfase temporal de la señal. El mecanismo de dilatación a su vez modifica la *wavelet*, contrayéndola o ensanchándola en función de la frecuencia que se desea analizar. Ambas propiedades permitirán que las *wavelets* se amolden a la frecuencia de la señal en ventanas concretas (M. X. Cohen, 2014. **Figura MM.13B**). La CWT puede definirse como:

$$CWT_x(n, s) = \frac{1}{\sqrt{s}} \sum_{n'=0}^{N-1} x_{n'} \Psi \left(\frac{n' - n}{s} \Delta t \right)$$

Siendo x_n una serie temporal o señal discreta en un tiempo y una escala de frecuencia determinada (n, s) con una serie de N puntos igualmente espaciados a una distancia Δt , y donde Ψ es la versión normalizada de la función *wavelet* madre Ψ_0 , siendo en nuestro caso la *wavelet* de Morlet compleja (**Figura MM.13C**), representada a través de la siguiente ecuación:

$$\Psi_0(\eta) = \pi^{-1/4} e^{i\omega_0 \eta} e^{-\eta^2/2}$$

donde η es un parámetro temporal, y ω_0 es la frecuencia central o constante que en nuestro caso

fue $\omega_0 = 6$, siendo este un valor óptimo para al ajuste de la resolución del tiempo-frecuencia (Farge, 1992).

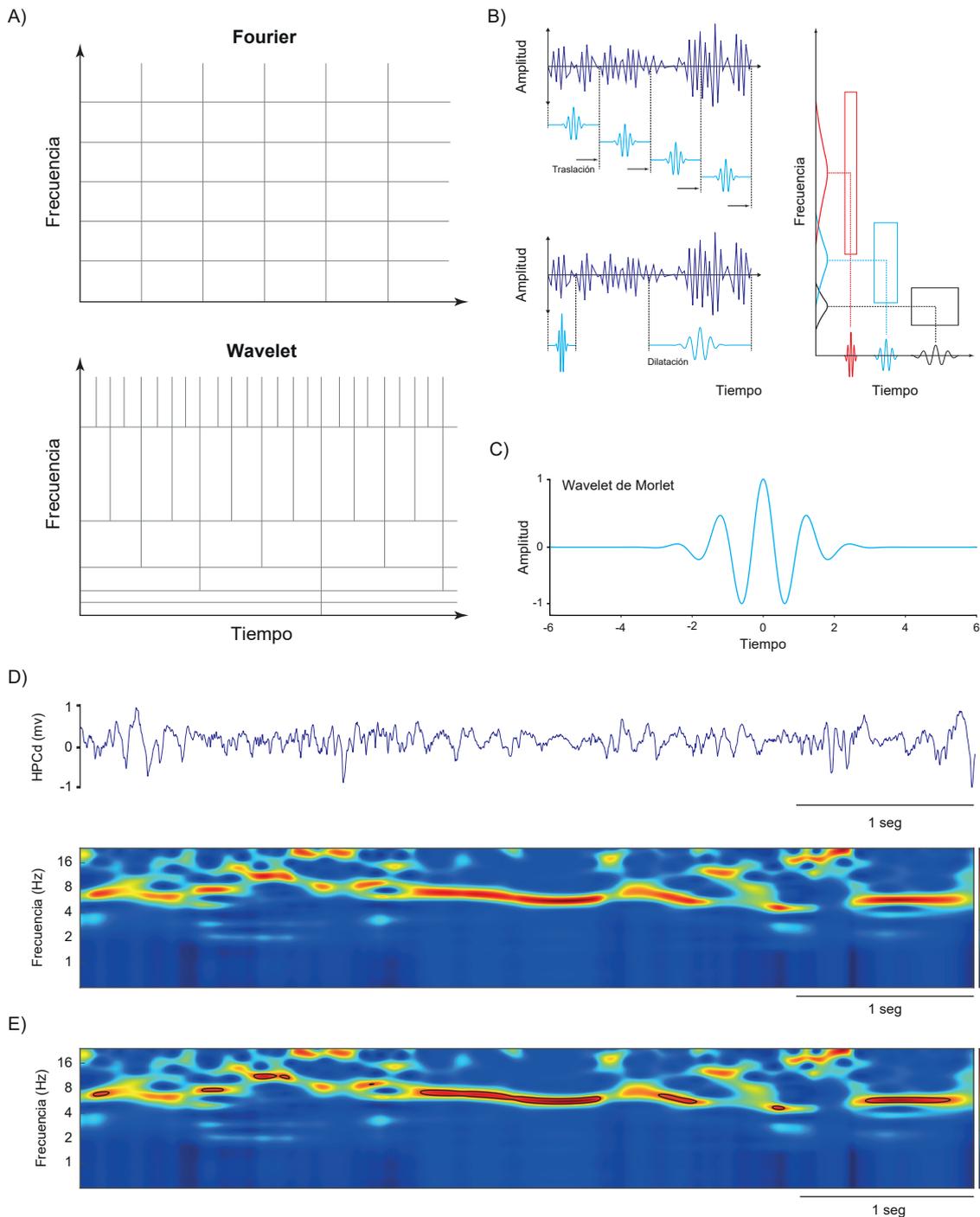


Fig. MM.13: Transformada de *wavelet*. A) Comparación entre la transformada de Fourier y la de *wavelet*. Fourier (figura superior) utiliza en el análisis de señales ventanas temporales estáticas y es apropiado para un único rango de frecuencias. Sin embargo, el uso del análisis *wavelet* (figura inferior) mejora la resolución tiempo-frecuencia debido a que la ondícula (en nuestro caso la *wavelet* de Morlet) utilizada en el análisis, tiene la capacidad de adaptarse a los rangos de frecuencias (figura adaptada de M. X. Cohen, 2014). **(Continúa en la página siguiente).**

Fig. MM.13: (Continuación). B) La adaptación a las frecuencias se realiza a través de sus dos propiedades básicas, la traslación (figura superior izquierda) y la dilatación (figura inferior izquierda). En la figura de la derecha se pueden ver como la *wavelet* se adaptaría a partir de estas propiedades a los diferentes rangos de frecuencia. **C)** *Wavelet* de Morlet. **D)** La representación del análisis *wavelet* se realizaría a través de espectrogramas. En la parte superior de la figura se puede ver 5 segundos del registro en crudo de HPCd y justamente debajo el espectrograma de este fragmento de registro. En el eje de ordenadas del espectrograma están representadas las frecuencias y en el de abscisas el tiempo. La potencia está representada a través de una escala colorimétrica donde los colores rojizos representan una potencia alta y los azules una potencia baja. **E)** A través de este análisis también es posible identificar regiones del espectrograma que cumplan un criterio determinado. Estas regiones serán marcadas con una serie de isolíneas de color negro, como las vistas en la figura. En este caso se representan, como ejemplo, aquellas regiones que sobrepasaban el 75 % de la potencia total de la banda theta

A través de CWT, se puede calcular también la potencia de la señal en cada escala de frecuencia (s), siendo esta el módulo de la señal compleja resultante $|W(s)|^2$. En este caso, los valores de potencia fueron normalizados a una escala $s^{-1}|W(s)|^2$ para evitar los efectos que tiene la escala en la representación como, por ejemplo, el enmascaramiento de las frecuencias altas por parte de las potencias de las bandas de frecuencia lenta por las diferencias de escalas (Y. Liu et al., 2007).

Los cálculos realizados mediante este método se representan en los denominados espectrogramas *wavelet* (**Figura MM.13D**), es decir, una representación en el dominio tiempo-frecuencia, quedando reflejada la potencia de cada una de las frecuencias en una escala colorimétrica.

En este tipo de representaciones se pueden identificar/detectar regiones que caigan entre rangos de frecuencia determinados (**Figura MM.13E**). Mediante isolíneas quedan delimitadas regiones cuyas potencias espectrales superan un umbral deseado, enmarcando así regiones destacables por su potencia. En nuestro trabajo este algoritmo sirvió para detectar las regiones de frecuencias situadas entre los 0.5-5 Hz con potencias superiores al 25 % de la potencia total, considerados como periodos de sueño de ondas lentas; o cuando las frecuencias comprendidas entre los 5-10 Hz sobrepasaban un 75 % de la potencia total, considerados entonces periodos de sueño REM.

Análisis del acoplamiento fase – amplitud

En una señal oscilatoria, la fase se refiere a la posición relativa de una onda en un ciclo de oscilación, y la amplitud se refiere a la magnitud de la oscilación. El acoplamiento fase-amplitud hace referencia a la relación entre la fase y la amplitud de una señal oscilatoria. Esto significa que la amplitud de una señal oscilatoria filtrada para un rango de frecuencias determinado puede depender de la fase en la que se encuentra la onda original o la filtrada a un rango de frecuencias menor que el anterior. Esto se conoce como acoplamiento fase-amplitud (PAC o comodulación).

El acoplamiento fase-amplitud, es común en sistemas oscilatorios acoplados, como en sistemas biológicos donde las células se comunican entre sí a través de señales oscilatorias y, en estas señales, se refiere concretamente a la modulación que ondas particulares puedan ejercer sobre otras. En este caso, si una oscilación de alta frecuencia está acoplada a una señal de baja frecuencia, la amplitud de la señal de alta frecuencia puede aumentar en determinadas fases de la señal de baja frecuencia y disminuir en otras. Este acoplamiento puede ser utilizado como un indicador de la conectividad funcional entre diferentes áreas cerebrales.

En este trabajo, el acoplamiento fase-amplitud se evaluó con el índice de modulación (MI) desarrollado por (Tort et al., 2010). El valor MI es una medida normalizada que refleja la

correlación entre amplitud instantánea de una oscilación, en una fase concreta de otra. Por lo tanto, este parámetro servirá para cuantificar la amplitud de la oscilación rápida al ciclo de la lenta, por lo que valores altos de MI se traducirán en amplitudes mayores de la oscilación rápida en fases concretas de la lenta.

De una serie temporal original, $x(t)$, se obtienen dos señales filtradas, x_{f_A} y x_{f_p} , filtradas en los rangos de frecuencia f_A , f_p , siendo el primero el elegido para el cálculo de las amplitudes, y el segundo para el cálculo de las fases. Las series temporales de la fase y la amplitud son extraídas aplicando la transformada de Hilbert. Por otro lado, la serie temporal de la amplitud, $A_{f_A}(t)$, de x_{f_A} , se determina mediante la envolvente de la amplitud; y la serie temporal de la fase de x_{f_p} , se expresa como $\Phi_{f_p}(t)$ (**Figura MM.14A**). Las fases $\Phi_{f_p}(t)$ son representadas en histogramas en el rango -2π (0° , valle de la oscilación que proporciona la fase) y $+2\pi$ radianes (360°), en ventanas de 20° , a través del cálculo la media de A_{f_A} en cada ventana j ($\langle A_{f_A} \rangle_{\phi_{f_p}}(j)$). A partir de aquí se calcula la entropía:

$$H = - \sum_{j=1}^N p_j \log p_j$$

donde N es el número de ventanas y donde p_j es,

$$p(j) = \frac{\langle A_{f_A} \rangle_{\phi_{f_p}}(j)}{\sum_{k=1}^N \langle A_{f_A} \rangle_{\phi_{f_p}}(k)}$$

En el caso en el que se produzca un incremento del acoplamiento fase-amplitud entre las dos oscilaciones, la distribución de las amplitudes dejará de ser uniforme y pasará a estar marcada en una fase concreta (**Figura MM.14B**). Debido a esto, el MI se definirá como una medida de desviación respecto a la distribución uniforme, siendo cuantificada esta desviación a través de la distancia Kullback-Leibler (Kullback & Leibler, 1951).

Como el MI asume valores normalizados entre 0 y 1, se consideró estadísticamente significativo si su valor era mayor a 2 desviaciones estándar de la media de los valores calculados a partir de 200 permutaciones aleatorias de las distribuciones de las amplitudes (Tort et al., 2010). Este proceso entraría dentro de los métodos de *Bootstrapping*, los cuales permiten aleatorizar la variable obtenida, de tal manera que permite demostrar que los valores obtenidos no son producto del azar.

El acoplamiento fase-amplitud se representó mediante la generación de los denominados comodulogramas (**Figura MM.14C**). Estas representaciones se construyen a partir de los valores del MI para cada rango de frecuencias, de fases y amplitud elegidas. Se representa en una escala colorimétrica que refleja los valores de MI, de tal manera que, los valores más altos están representados con colores rojizos y los más bajos con colores azulados.

En nuestro caso, se eligieron frecuencias que aportaban la fase aquellas menores a 12 Hz (rangos comprendidos entre las SW [0.1-3 Hz] y Theta [3-12 Hz]), y las que componían la amplitud, las incluidas entre los 30 y los 200 Hz (frecuencias gamma). De manera más específica, para construir el comodulograma, se utilizó una resolución de 1 Hz de frecuencia de fase y 5 Hz de frecuencia de amplitud, en vez de utilizar bandas preestablecidas, como pueden ser las subdivisiones gamma o theta. Con esta división por rangos de frecuencia se conseguía una

mayor resolución en la visualización y detección de comodulación. En total, con estas divisiones, se construyó un comodulograma de 408 valores (12 rangos de fase * 34 rangos de amplitudes) en el experimento III y de 102 (3 rangos de fase * 34 rangos de amplitudes) en el experimento V.

En nuestros experimentos, para la construcción de los comodulogramas solamente se utilizaron aquellos valores de MI significativos (aquellos que superaban 2 desviaciones estándar de la media de los valores calculados a partir de 200 permutaciones aleatorias, como se explicó en el apartado anterior).

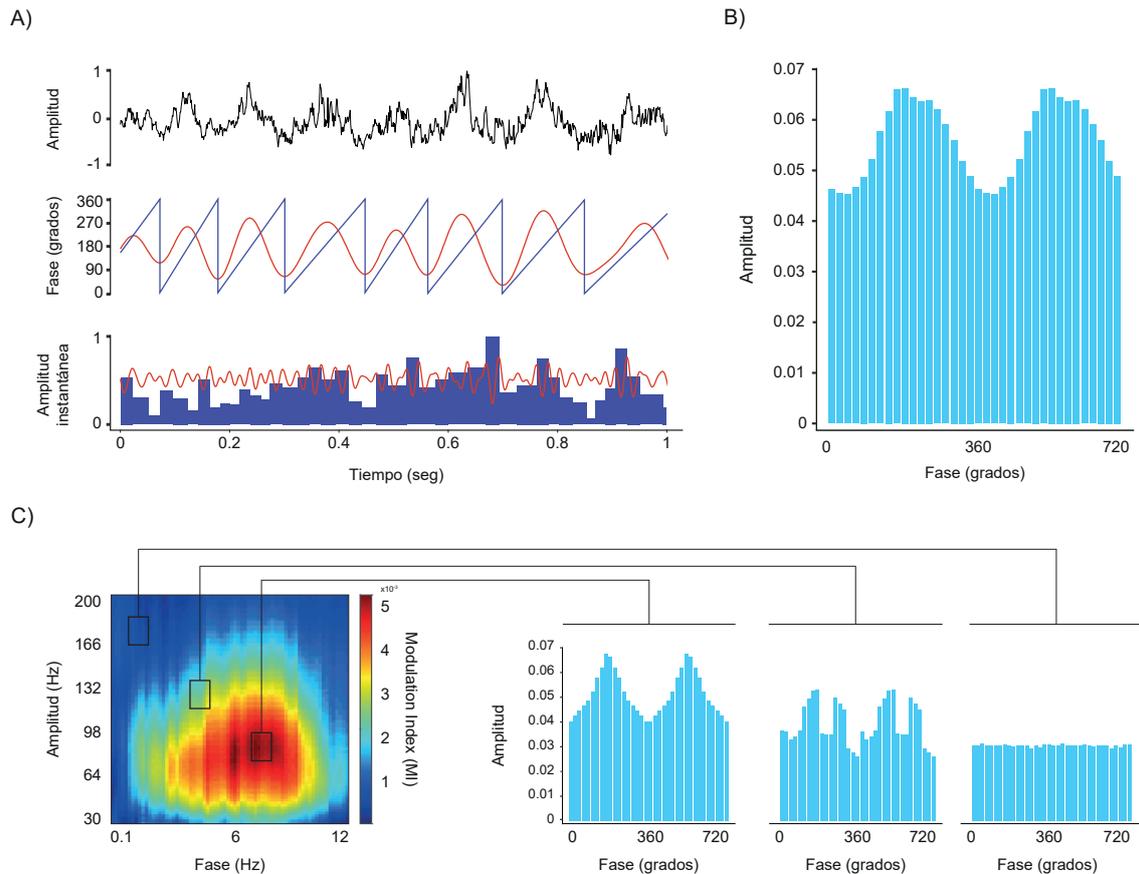


Fig. MM.14: Análisis del acoplamiento fase amplitud; comodulogramas. **A)** Filtrado de la señal en crudo (superior) a las frecuencias de interés (frecuencias theta en la imagen central y gamma en la inferior. Ambas de representadas con color rojo) y a través de la transformada de Hilbert calcular la fase de la oscilación más lenta (línea de color azul oscuro de la figura central) y la amplitud instantánea de la rápida (barras de color azul oscuro de la figura inferior. Basado en Tort et al., 2010). **B)** Histogramas en los que se representa el acoplamiento de la amplitud de gamma (eje de ordenadas) con respecto del ciclo theta (eje de abscisas), de la misma señal representada en **A**. Para facilitar su visualización se representan dos ciclos (720°). **C)** representación de la comodulación a través de comodulogramas. En el eje de ordenadas se representan las frecuencias y en el de abscisas las fases; los colores más cálidos indican un mayor acoplamiento entre las frecuencias las fases y los azules un acoplamiento menor. La diferencia en el acoplamiento se puede ver en la parte derecha de la figura. En aquellas áreas señaladas con colores más cálidos los máximos de amplitud de la oscilación rápida se sitúan en momentos concretos de la lenta. Sin embargo, en el área con colores más fríos no se da este acoplamiento

Acoplamiento fase – fase

La sincronización o acoplamiento de fases es la manifestación de la interacción entre las fases de dos oscilaciones, en nuestro caso, los registros de dos estructuras cerebrales. Este proceso de acoplamiento de fases se puede medir a partir de señales LFP o EEG (Vinck et al., 2011), según la propuesta de Lachaux y colaboradores 1999, los cuales desarrollaron un método matemático preciso para conocer este nivel de acoplamiento a través del índice conocido como valor de acoplamiento de fase (*Phase Locking Value*) o PLV. Esta medida evalúa la diferencia de fase instantánea de las señales electrofisiológicas bajo la hipótesis de que, áreas cerebrales funcionalmente conectadas muestran fases que evolucionan temporalmente juntas. En estos casos, se dice que las fases de las señales están “acopladas” al reconocer que la diferencia de fases de las señales que se comparan es constante en el tiempo.

Aunque este acoplamiento exista, a veces es posible, que estímulos externos reajusten la fase, aumentando el acoplamiento a través del tiempo (**Figura MM.15A**). Sin embargo, en muchas ocasiones las señales existentes en el cerebro son “ruidosas” y no siempre es posible estar seguro de que la señal procede de un único oscilador. El PLV resuelve este problema calculando la dispersión de las diferencias de fase y haciendo una estimación vinculada a la dispersión. Es decir, cuanto más estrecha sea la distribución de la diferencia de fase, mayor será el valor del PLV, valor que oscila entre 0, si las señales no muestran sincronización de fase, y 1, si la sincronía de fase es completa. (Bruña et al., 2018).

El PLV fue definido originalmente por Lachaux y colaboradores 1999 como:

$$PLV_{i,j}(t) = \frac{1}{N} \left| \sum_{n=1}^N e^{-i(\varphi_i(t,n) - \varphi_j(t,n))} \right|$$

donde N es la longitud periodo de tiempo (t) y $\varphi_i^{(t,n)}$ es la fase instantánea para la señales i o j en el periodo n de un tiempo t . A diferencia del acoplamiento fase-amplitud, en este caso utilizamos la transformada continua de *Wavelet* para obtener la fase instantánea de las señales (**Figura MM.15B**).

El PLV se suele representar en un diagrama de rosas en el que se muestra cómo se distribuye la diferencias de fase de las oscilaciones a comparar en el rango -2π hasta $+2\pi$ radianes (0° - 360°). Se trata por tanto de un histograma construido a partir de las diferencias de fase en una distribución circular (**Figura MM.15C**). El valor de PLV deriva en último término del nivel de dispersión de la distribución mientras que, en la situación contraria, la distribución tendrá una mayor dispersión y, por tanto, el valor del acoplamiento será menor. Una distribución homogénea en el círculo llevará a un valor de PVL = 0.

Este tipo de distribuciones no deben ser tratadas con estadística lineal sino direccional, también nombrada como circular. Previamente al cálculo de PLV, se emplea el test de uniformidad de Rayleigh para determinar si la fuerza de acoplamiento es significativamente estacionaria, es decir, para determinar el grado de homogeneidad, y en segundo lugar, a partir las fases de las señales oscilatorias filtradas para cada una de las bandas de frecuencias de interés se calcula el PLV tal y como se ha explicado.

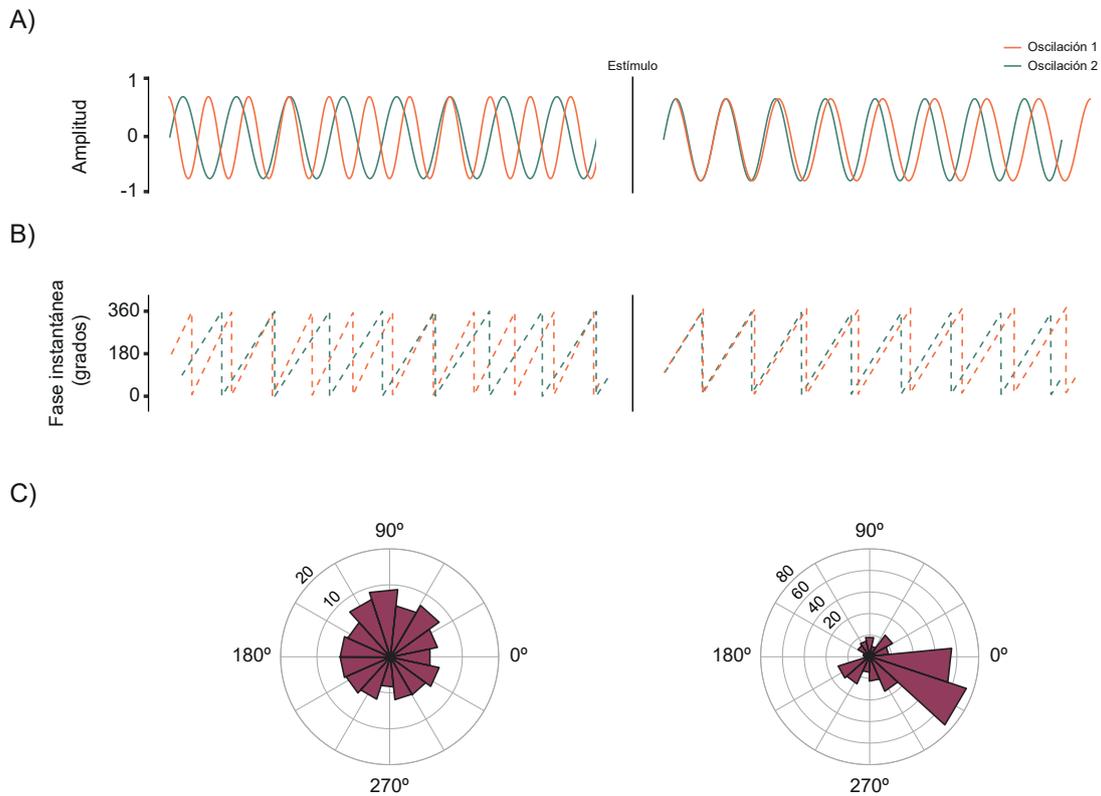


Fig. MM.15: Acoplamiento fase – fase, medido como PLV: **A)** El grado de acoplamiento entre las fases de dos señales (líneas naranja y verde) puede variar; incrementarse, por ejemplo, como se ve en la imagen de la derecha en comparación con la de la izquierda. **B)** para calcular ese acoplamiento se utilizó la transformada de wavelet con la que se calculó la fase instantánea de cada una de las oscilaciones. En la imagen de la derecha se observa como las señales se han reorganizado, con respecto a las de la izquierda, encontrándose en este caso durante los momentos iniciales, en una sincronización de fase casi perfecta. **C)** El acoplamiento de fase suele representarse a través de los diagramas de rosas, en los que el grado de acoplamiento es inversamente proporcional a la dispersión. Así, el diagrama de rosas de la izquierda, que podría corresponder a las imágenes representadas en **A** y **B** izquierda, poco sincrónicas y donde el grado de dispersión es mayor que en el diagrama de rosas de la derecha, el cual podría reflejar el acoplamiento de las señales representadas en **A** y **B** derecha, con mayor sincronía.

Información mutua

El concepto de Información Mutua (M_{Inf}) se utiliza para representar una medida no lineal de información compartida entre dos series temporales (Freiwald et al., 1999). De manera resumida, la información mutua mide cómo el conocimiento de una variable reduce la incertidumbre de la otra (Kraskov et al., 2004).

Este cálculo se basa principalmente en el supuesto de entropía desarrollado por Shannon en 1948 en su “Teoría de la información”. Según esta propuesta, el término “entropía” es descrito de un modo estrictamente estadístico, refiriéndose únicamente a la información que puede aportar una señal. El término entropía no debe ser, por tanto, aquí interpretado como una medida del orden de un sistema, como lo hace la termodinámica. En la teoría de la información, la entropía se refiere a la medida de incertidumbre o aleatoriedad de una fuente de información. Es una medida de la cantidad de información que se espera recibir cuando se observa un evento. En

otras palabras, la entropía se utiliza para cuantificar la cantidad de información contenida en una fuente de datos. Cuanto mayor sea la entropía, mayor será la incertidumbre y la cantidad de información que se espera recibir.

La entropía o información de una señal X se calcula a través de:

$$H(X) = - \sum_{i=1}^n p_X(i) \cdot \log_2 p_X(i)$$

donde $p_x(i)$, es la probabilidad de que ocurra el evento i . Para determinar estas probabilidades se recurre a cada uno de los valores de la distribución de los datos,

$$p_x = \frac{n_x}{\sum_{i=1}^m n_i}$$

La entropía $H(X)$ de una señal X se interpreta como la cantidad posible de información que aporta esa señal desde su inicio hasta sus n_x posibles estados. Es decir, los cambios en la señal X producirán cada uno valores de entropía desde x_1 hasta x_{n_x} . Además, cada uno de estos cambios estará asociado a una probabilidad de ocurrencia ($p(x_i)$. Steuer et al., 2002; Cover & Thomas, 2005).

Con la ecuación anterior, aplicada a una señal única, también se puede calcular la entropía de dos señales semejantes X y Y :

$$H(X, Y) = \sum_{i=1}^{n_x} \sum_{j=1}^{n_y} p_{XY(i,j)} \cdot \log_2 p_{XY(i,j)}$$

donde aquí $p(x_i, y_j)$ denota la probabilidad condicionada (probabilidad de que ocurra un evento en X , sabiendo que también están ocurriendo eventos en Y o viceversa) o entropía condicional de que la señal X se encuentre en el estado Y_i ($H(X|Y)$) e Y en el estado X_j ($H(Y|X)$). En ambos casos se trabaja en escala logarítmica en base 2 debido a que, la entropía de Shannon trabaja con dos probabilidades en el sistema de eventos: la probabilidad de que ocurra algo o que no ocurra, ambas con una probabilidad de 0.5 (Ince, 2017).

Como hemos dicho anteriormente, la entropía de una serie temporal refleja una medida de la información que contiene. Obteniendo la entropía de dos señales independientes ($H(X)$ y $H(Y)$) y la entropía de la distribución conjunta de ambas, se puede calcular la información mutua que comparten a través de la siguiente expresión:

$$M_{Inf} = H(X) + H(Y) - H(X, Y)$$

En la **Figura MM.16** se puede comprobar de manera gráfica, a través de diagramas de Venn, cómo se obtiene la información mutua a través de las entropías. En este caso, se calculó la M_{Inf} de la señal sin filtrar, además de la M_{Inf} para la señal filtrada para distintas bandas de frecuencia como son la SW, el theta bajo y alto y la banda beta.

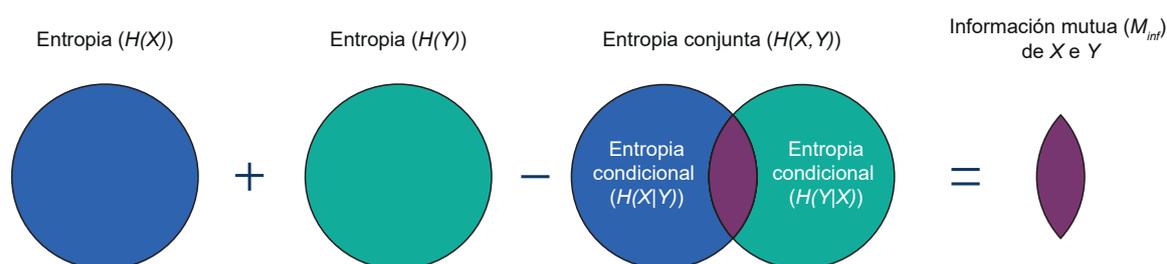


Fig. MM.16: Representación de la información mutua a través de diagramas de Venn. El cálculo de la información mutua de dos señales (X e Y) se realiza a través de la entropía de Shannon. Para calcularla es necesario conocer la entropía individual de la señal X ($H(X)$); de la señal Y ($H(Y)$) y la entropía conjunta de ambas señales ($H(X, Y)$). Con esta información conocida, la información que se repita en todos estos casos será definida como información mutua.

Balance excitación/inhibición

Generalmente, las neuronas están sometidas a una entrada constante de información sináptica dando lugar a disparos asincrónicos e irregulares (Destexhe et al., 2001). Durante este proceso, las neuronas se encuentran en un equilibrio entre la excitación y la inhibición sinápticas, que suele consistir en entradas rápidas de glutamato y entradas más lentas de GABA, respectivamente. Se ha visto que, en este equilibrio, la fuerza de la inhibición es de 2 a 6 veces más fuerte que la de la excitación (Alvarez & Destexhe, 2004; Xue et al., 2014).

El balance excitación/inhibición es esencial para la formación de oscilaciones neuronales (Atallah & Scanziani, 2009), y su desequilibrio podría estar implicado en trastornos neurológicos y psiquiátricos, que de forma clara se observan en la epilepsia (González-Ramírez et al., 2015) o en la esquizofrenia (Uhlhaas & Singer, 2010).

R. Gao et al. (2017) demostraron que era posible discriminar el excitación/inhibición a través de los LFP en el hipocampo, que tradicionalmente se evaluaba mediante estudios de registro intracelular de los potenciales de acción postsinápticos (R. Gao et al., 2017). En concreto, estos autores consiguieron estudiar este proceso a partir de la pendiente de la recta obtenida derivada del ajuste de regresión lineal de los puntos del espectro de potencia en escala logarítmica situados entre los 30 y los 50 Hz. Debido a la fuerza de la inhibición neuronal existente (entre 2 y 6 veces mayor que la de excitación), la pendiente entre ambas frecuencias suele ser siempre negativa, por lo que las variaciones en esta pendiente reflejarían cambios en el balance excitación/inhibición.

En este trabajo, el balance se calculó a través de los espectros de potencia en escala logarítmica en base 10 (**Figura MM.17**). A diferencia de los autores originales, no se pudieron utilizar las frecuencias situadas entre los 30-50 Hz debido a que la eliminación del artefacto producido por la corriente eléctrica en los 50 Hz deformaba el espectro de potencia en esas frecuencias. Por lo tanto, se aislaron las frecuencias situadas entre los 30 y los 46 Hz (antes del inicio del artefacto causado por el filtro), y se ajustaron a un modelo de regresión lineal:

$$Y = \alpha + \beta X + \varepsilon$$

Donde α es el valor que toma la variable dependiente Y cuando la variable independiente X es

igual a 0, también conocido como la ordenada en el origen; η representa al promedio de la diferencia absoluta entre los valores observados y los valores predichos; y β determina el parámetro de la pendiente de la recta el cual es calculado a través de la fórmula (Figura MM.17):

$$b = \frac{S_{XY}}{S_X^2}$$

donde S_{XY} representa la covarianza muestral de los valores X e Y , y S_X^2 la varianza muestral de X .

De las ecuaciones obtenidas se trabajó con el valor de la pendiente y al igual que en los cálculos anteriores se realizó un porcentaje de cambio promedio (en función de los clústers obtenidos) respecto de los valores basales de cada animal para evaluar su evolución a lo largo de los registros.

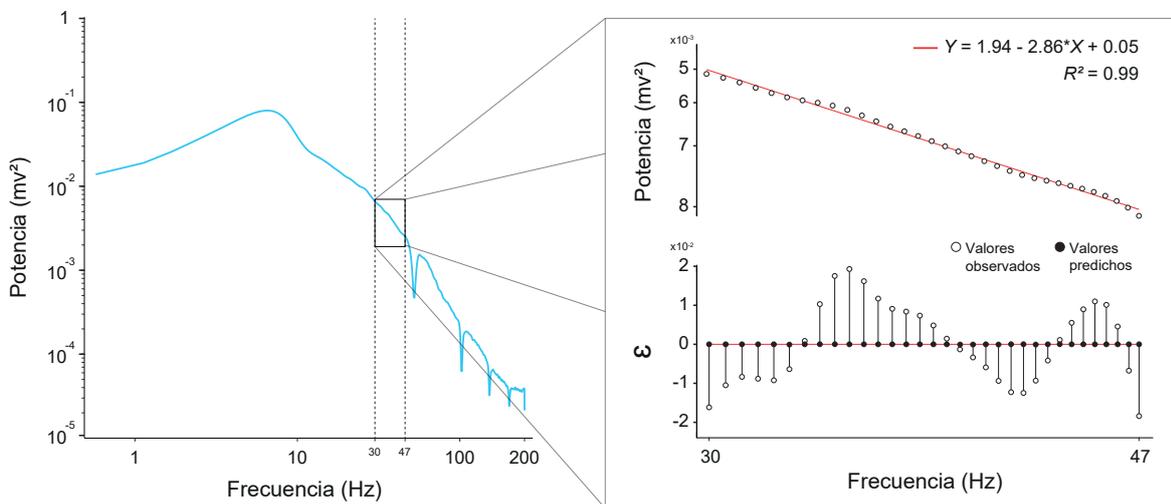


Fig. MM.17: Cálculo del balance excitación/inhibición. Para calcular el balance entre la excitación y la inhibición neuronal se transformaron los espectros de potencia de cada ventana de 5 segundos a escala logarítmica. Tras esto se aislaron las frecuencias situadas entre los 30 y 47 Hz (figura izquierda) y se ajustaron los valores a una recta de regresión (figura derecha superior) a través de los valores observados (valores originales, puntos de color blanco) y los valores predichos (figura derecha inferior, valores que formarán la recta de regresión, puntos de color negro).

Determinación de los periodos de sueño

Una vez realizado la clasificación de estados, se determinaron los periodos de sueño de cada animal de la siguiente forma. En primer lugar, se consideraron periodos de sueño todos los periodos con ventanas [1] o [2] precedidas por al menos 30 segundos de vigilia (etiquetas [3] o [4]); por lo tanto, un periodo de sueño se inicia con una ventana etiquetada como [1] o [2] que aparece tras 30 segundos de vigilia. Si en algún momento de la continuidad del periodo de sueño aparecían ventanas de vigilia (tanto activa [4] como tranquila [3]), se clasificaban como microdespertares, a no ser que el tiempo total de estas ventanas superase los 30 segundos. Si ocurría esto se daba el periodo de sueño como finalizado, y este periodo de ventanas [3] o [4] se interpretaba como que el animal se había despertado.

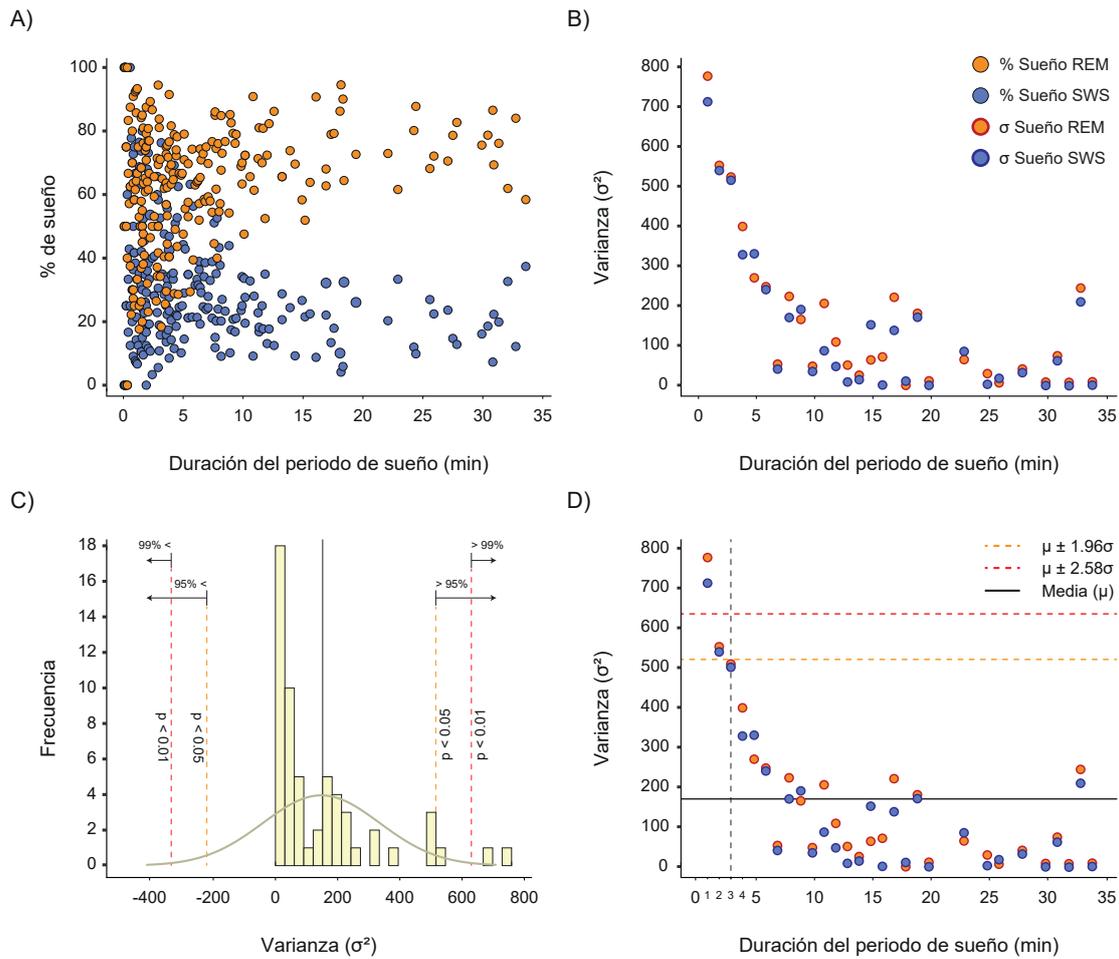


Fig. MM.18: Determinación de los periodos de análisis del sueño. A) La proporción de sueño SWS y REM de cada uno de los periodos de sueño se agruparon en una gráfica en función de su duración. B) Estas proporciones se agruparon en intervalos de tiempo de un minuto y se calculó la varianza de cada uno de los intervalos. C y D) La varianza obtenida fue ajustada a una curva normal y se establecieron los intervalos de confianza del 95 y 99% para obtener aquellos periodos de sueño que quedaban fuera de estos intervalos. En la figura D se puede ver como aquellos periodos de sueño inferiores a 3 minutos contaban con una alta varianza y fueron aquellos que estuvieron por encima del 95% de confianza. Por lo tanto, se determinó que aquellas ventanas de sueño con una duración menor a 3 minutos serian descartadas de los análisis.

Sobre cada periodo de sueño determinado así, se calculó el porcentaje de tiempo que los animales permanecían en sueño SWS, REM y el tiempo de microdespertares a través de la siguientes fórmulas:

$$\% \text{ de tiempo SWS o REM} = \frac{\text{número de ventanas de SWS [1] o REM [2]}}{\text{duración del periodo de sueño}}$$

$$\% \text{ de tiempo microdespertares} = ((\% \text{ de tiempo SWS}) + (\% \text{ de tiempo REM})) - 100$$

Una vez calculadas ambas variables se estudió la distribución de sueño SWS y REM de en los animales de los experimentos III y V que no había recibido ningún tratamiento, es decir, en el sueño “normal” y se detectó una alta variabilidad en la composición de aquellos periodos

inferiores a 5 minutos.

En humanos se ha comprobado que la estructura del sueño varía en función de su duración (McDevitt et al., 2012), y en roedores, se sabe que los periodos de sueño tienen una duración que va desde los 20 segundos a los 13 minutos (T. Weiss & Roldán, 1964; Tsubone & Sawazaki, 1979; Pagliardini et al., 2013). Aunque en esta especie no se ha determinado si la duración del sueño afecta a su composición del sueño en función de su duración que ocurre en roedores.

Por ello, decidimos estudiar solo los periodos de duración suficiente para que la estructura se estabilizara, es decir, aquellos en los que la variabilidad debida a su duración se redujera. Por ello, nos surgió un nuevo reto, que fue determinar esta duración de manera objetiva. En concreto, a partir del uso de la varianza (σ^2 . Medida de dispersión que representa la variabilidad de una serie de datos respecto a su media).

Así, se agrupó la composición de todos los periodos de sueño en ventanas de 1 minuto, es decir 0-1, para 1-2 min y así sucesivamente (**Figura MM.18A**) y se calculó la varianza del porcentaje de composición de sueño SWS y REM (**Figura MM.18B**). Los datos se ajustaron a una curva normal y se estableció un intervalo de confianza del 95 % ($p < 0.05$ o media ± 1.96 desviaciones típicas [$\mu \pm 1.96\sigma$]) como criterio de exclusión (**Figura MM.18C**). Esto dio como resultado que aquellas ventanas de sueño que duraban menos de 3 minutos presentaban una variabilidad superior al 95 % (algunas incluso por encima del 99 % [$p < 0.01$ o $\mu \pm 2.58\sigma$]), por lo que finalmente se excluyeron de los análisis posteriores (**Figura MM.18D**).

Administración de fármacos

En los experimentos IV y V, se recreó un modelo de estrés crónico para el que se administró corticosterona durante 22 o 23 días (dependiendo del experimento) disuelta en el agua disponible en los biberones, basándonos en D. J. David et al. (2009). Así, los animales recibieron cada día agua destilada (*ad libitum*) que contenía a 35 $\mu\text{g/ml/día}$ de corticosterona (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) disuelta con ayuda de 4.5 mg/ml de (2-hidroxiopropil)- β -ciclodextrina (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA), que corresponde a una dosis de 5 mg/kg al día. Los animales control recibieron unicamente el vehículo en que es disuelta la corticosterona.

En los experimentos I, II, III y V se administró ketamina (Ecuphar, Barcelona, España), en concreto por vía intraperitoneal en dos dosis diferentes, 5 mg/kg o 30 mg/kg, ambas diluida en suero salino (0.9 %, pH 7) hasta conseguir un volumen de 0.2 ml.

Test conductuales

Según los objetivos de cada capítulo, se llevaron a cabo determinados tests de conducta con la intención de evaluar diferentes aspectos del comportamiento y cuantificar así el efecto de la administración de cada dosis de ketamina y comprobar la inducción de un estado depresivo/ansioso mediante el tratamiento crónico con corticosterona. Todos los procedimientos fueron grabados (Webcam Logitech C270. Software de grabación: *Logitech Webcam Software*) y posteriormente analizados mediante *DeepLabCut* (v. 2.2.0.6) y *Solomon Coder* (v. 19.08.02)

Laberinto elevado en O (o en inglés, OMaze)

El laberinto elevado en cero (Shepherd et al., 1994), es una modificación del laberinto elevado en cruz desarrollado por Pellow & File (1986) y también se usa para medir comportamientos ansioso. Mediante el OMaze se ha comprobado que la administración de ciertos fármacos

ansiolíticos reduce las variables medidas en esta prueba. (Kulkarni et al., 2007). Ambos equipos cuentan con espacios cerrados y abiertos, sin embargo, a diferencia del laberinto en cruz, el *OMaze* es circular, lo que proporciona ciertas ventajas. La primera de ellas es que elimina el cuadrado central donde se unen los brazos abiertos y los cerrados, facilitando el análisis de la conducta (Tucker & McCabe, 2021). La segunda es que, al ser circular, se eliminan las esquinas y los extremos cerrados por los cuales los ratones sienten una preferencia innata (S. J. Gray et al., 2000).

Materiales

- *OMaze* (80 cm de altura, 20 cm de altura de las paredes y pasillo de 7 cm de alto) de fabricación propia.
- Cronómetro.

Procedimiento

1. La cámara era conectada y se iniciaba la grabación. El test era registrado en plano cenital (encuadrado con un ángulo de 90° perpendicular al suelo de la sala) desde un soporte situado a una altura de 2,5 metros del suelo.
2. El animal era sacado de su jaula e introducido en el *OMaze*, siempre en la entrada de uno de los brazos mirando hacia la parte cerrada. El test se daba por iniciado (y por tanto es dónde se iniciaba el análisis) cuando el animal tenía el cuerpo completo dentro del brazo cerrado.
3. El animal permanecía en el laberinto durante 5 minutos. Pasado ese tiempo era retirado y devuelto a su jaula.

Variables medidas

Siguiendo las instrucciones de Shepherd et al. (1994) se midieron varias conductas en este test. En primer lugar, se analizaron las variables relacionadas con las transiciones entre las zonas abiertas y cerradas, como la latencia a entrar por primera vez a un brazo abierto o el número de veces que el animal salía a un brazos abierto. También se contabilizó el tiempo total que el animal permanecía dentro de los brazos abiertos.

Las otras variables analizadas son aquellas que se consideran indicativas de conductas de evaluación de riesgos (S. M. Weiss et al., 1998). El primer comportamiento de este tipo es la llamada postura estirada de atención o SAPs (del inglés, *Stretched-Attend Postures*). En ella el ratón se coloca con el cuerpo alargado en el límite entre el brazo abierto y el cerrado, con las patas traseras en la parte cerrada y las delanteras y la cabeza en el brazo abierto. La segunda es la de “*head-dipping*” o mirada al precipicio, en ella los animales se asoman desde los brazos abiertos o cerrados el fondo del precipicio generado por la distancia entre el laberinto y el suelo (Kaesermann, 1986; Shepherd et al., 1994; S. M. Weiss et al., 1998).

Test de reconocimiento del objeto novedoso (NORT o en inglés, Novel Object Recognition Test)

Creado por Ennaceur y Delacour en (1988), el test de reconocimiento de objetos se basa en el principio de que, en un entorno familiar, los roedores muestran una atracción instintiva hacia

la novedad (Hughes, 2007). Así, en este test se permite a los animales explorar libremente dos objetos idénticos y, tras un periodo de tiempo, uno de los objetos es cambiado por otro nuevo, lo cual, por lo tanto, supondrá un aumento de la exploración de este último (Akkerman et al., 2012; Lueptow, 2017). Este procedimiento se ha utilizado principalmente para examinar las funciones relacionadas con la memoria, ya sea en combinación con administración de tratamientos farmacológicos (Sambeth et al., 2007; Klinkenberg & Blokland, 2010), lesiones cerebrales (Ainge et al., 2006) o en el contexto de trastornos mentales (Hauser et al., 2017), y también puede emplearse para la evaluación de la discriminación de objetos ya que, algunos de las variables que proporciona están relacionadas con este proceso cognitivo (Lueptow, 2017).

Materiales

- Caja cuadrada de metacrilato de color negro (50 x 50 cm de base y 45 cm de altura).
- Objetos de diferentes formas y tamaños. Nunca superiores al tamaño del cuerpo del animal.

Procedimiento

1. El animal era sacado de su jaula y se introducía en la caja vacía durante 5 minutos para que se habituase.
2. Una vez transcurrido el tiempo de habituación, el animal era sacado de la caja de experimentación y devuelto a su jaula durante el tiempo en el que el experimentador colocaba dos objetos iguales, situados a una distancia de 20 cm entre ellos y en esquinas opuestas de la caja.
3. La cámara era conectada y se iniciaba la grabación, que se mantenía durante 10 minutos. El test era registrado en plano cenital (encuadrado con un ángulo de 90° perpendicular al suelo de la caja) desde un soporte situado encima de la caja.
4. El animal era devuelto a la caja para comenzar la fase de entrenamiento. Esta fase duraba también 10 minutos. Una vez finalizada esta fase se detenía la grabación.
5. Nuevamente el animal era sacado de la caja, devuelto a su jaula y el experimentador cambiaba uno de los objetos por otro diferente.
6. Antes de volver a la caja, se le inyectaba al animal salino, 5 mg/kg o 30 mg/kg de ketamina, en función del grupo asignado. De esta manera se puede estudiar como la ketamina afectaba la memoria a corto plazo (Tagliabata et al., 2009; Antunes & Biala, 2012; Wally et al., 2022) y la discriminación (Hauser et al., 2017) de los objetos con el fin de relacionar la existencia de problemas en ambos procesos con la sintomatología psicótica.
7. Se iniciaba la grabación y el animal era devuelto a la caja de metacrilato donde pasaba otros 10 minutos. Esta segunda fase es denominada como fase de test. Una vez acabada esta segunda fase, el animal era sacado de la caja, devuelto a su jaula.

Criterios de exclusión

Para esta prueba se implantaron varios criterios de exclusión. En primer lugar, se comprobó que todos los animales exploraban más de 20 segundos en ambas fases del test. Se considera que, si el

tiempo de exploración es menor a esto, no se puede asumir que hayan pasado suficiente tiempo explorando para aprender o discriminar (Lueptow, 2017). En segundo lugar, para descartar que no existía preferencia de lugar por algún lado de la caja (Prus et al., 2009), se comprobó en la fase de entrenamiento que el tiempo de exploración de cada objeto no era superior a un 50 % al del otro. Estos criterios se aplicaron en los dos NORT, el realizado inmediatamente como en el de las 2 horas.

Variables medidas

Las medidas principales obtenidas en este test son los tiempos de exploración que indican el tiempo total de exploración de los objetos en la fase de entrenamiento y de test, respectivamente. A partir de estas medidas se pueden calcular otras variables (**Tabla MM.2**) como, por ejemplo: la discriminación absoluta (D1), el índice de discriminación (D2) y el índice de preferencia (D3).

Tabla MM.2: Cálculo de las variables medidas en el test NORT

Variable	Cálculo
Exploración durante la fase de entrenamiento	$a1 + a2$
Exploración durante la fase de test	$a + b$
Discriminación absoluta (D1)	$D1 = b - a$
Índice de discriminación (D2)	$D2 = D1/(a + b)$
Índice de preferencia (D3)	$D3 = (b/(a + b)) * 100$

Nota: **a** exploración de los objetos iguales y **b** exploración del objeto nuevo

Además de cuantificar el tiempo de total exploración de los objetos en cada una de las fases, también se obtuvo la exploración minuto a minuto en cada fase con el fin de estudiar un perfil temporal, es decir, su evolución. Esto también se realizó con la discriminación absoluta (D1).

Otras variables analizadas

Para profundizar en la evaluación del posible efecto psicomimético de la ketamina se analizó también la evolución temporal de otras variables directamente relacionadas con la psicosis, como son la locomoción o la distancia recorrida a lo largo de la prueba y los comportamientos estereotipados y atáxicos.

Los comportamientos estereotipados se definen como patrones posturo-motores repetitivos, que en realidad son acentuaciones de comportamientos normales de la especie (Castellani & Adams, 1981). El comportamiento estereotípico se analizó siguiendo los criterios de Yadav et al., (2017, 2018) incluyendo conductas como: movimientos de balanceo del cuerpo (*weaving*), caídas, giros del animal que lo llevan al punto inicial donde comenzó la marcha (*turning*), movimientos circulares o dorsoventrales de la cabeza seguidos de un olfateo repetitivo (*head bobbing*). El análisis de estas conductas se realizó de manera manual, utilizando el programa *Solomon Coder*, cada vez que el animal realizaba una de estas conductas y se sumaron todas las realizadas en cada minuto para obtener el perfil temporal durante los 10 minutos totales del test.

Por otro lado, el concepto de ataxia se refiere a la alteración de la capacidad para realizar movimientos coordinados (Castellani & Adams, 1981). Para esta medida se utilizó la escala propuesta por Castellani & Adams (1981) que asigna una puntuación en función de los movimientos realizados: animal en reposo con ausencia de locomoción, pero con las cuatro patas apoyadas en el suelo, [0]; movimientos coordinados durante la marcha o la exploración y conducta de *rearing* (el animal se sitúa erguido sobre las patas traseras y realiza movimientos de exploración olfativa) sin caerse, [1]; movimientos descoordinados con caídas ocasionales en la marcha y en la conducta de *rearing*, [2]; locomoción realizada solo con las patas delanteras y arrastrando las traseras, esto es un indicativo de que el animal es incapaz de sostener el peso de su cuerpo, [3]; Sin locomoción, el animal se encuentra tirado en el suelo de lado o sobre el abdomen, [4].

Test de natación forzada (FST o en inglés, Forced Swimming Test)

El test de natación forzada (FST; Porsolt et al., 1978) resulta útil para el estudio del potencial antidepressivo de fármacos mediante la evaluación de conductas denominadas “*depressive-like*” en animales, lo que serían conductas “antidepressivas” o “de tipo antidepressivo”. Además, este test también se usa para evaluar el estado depresivo en animales sometidos a algún paradigma para inducir este estado (Castagné et al., 2011). El test se basa en situar a los animales en un cilindro lleno de agua del que no tienen escapatoria. En esta situación, los animales inicialmente tratan de escapar mediante el uso de comportamientos de natación o escalada, pero progresivamente cesan en estas conductas, de manera que se observa un incremento de la inmovilidad. Esta inmovilidad es el reflejo del fracaso de las conductas dirigidas al escape, lo que se conoce como desesperación conductual (Lucki, 1997; Cryan et al., 2002). En los animales con conductas depresivas el grado de inmovilidad es mayor, mientras que los antidepressivos tienden a incrementar las conductas de escapada.

Materiales

- Caja de madera (70 x 40 x 50 cm) donde era introducido el recipiente con agua.
- Recipiente cilíndrico (20 cm de diámetro) lleno de agua (13 cm de altura del agua).
- Tira led para iluminar la caja.
- Termómetro.
- Manta eléctrica.
- Caja de estabulación.

Procedimiento

1. El recipiente cilíndrico era llenado de agua y su temperatura controlada a través de un termómetro. La temperatura del agua se ajustaba a 25°C.
2. El recipiente cilíndrico era introducido en una caja de madera (que se cerraba una vez comenzaba la prueba conductual). La caja contaba con una tira led que iluminaba el interior y permitía la grabación de la prueba.
3. Se iniciaba la grabación; la cámara estaba situada en plano cenital (encuadrado con un ángulo de 90° perpendicular al suelo de la caja) y registraba a través de un agujero en el

- techo de la caja.
4. El animal era sacado de su jaula e introducido en el agua durante 6 minutos.
 5. Transcurrido el tiempo del test, el animal era sacado del agua y se le colocaba en una caja de estabulación debajo de la cual había una manta eléctrica para que se secara y evitar así la hipotermia.
 6. Una vez el animal estaba seco, era devuelto a su jaula.

Variables medidas

Siguiendo las instrucciones de Yankelevitch-Yahav et al. (2015) para la prueba en ratones, el tiempo total era dividido en dos bloques: los primeros 2 minutos eran de pre-test y los siguientes 4 minutos correspondían a la fase de test.

Tres fueron los comportamientos analizados en este test: la natación, que consistía en desplazamientos activos de los animales a través de todo el perímetro del cilindro; la inmovilidad, en la cual el animal se encuentra flotando en ausencia de cualquier movimiento o solamente con los movimientos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua; y la escalada, en la cual el cuerpo animal se coloca paralelo a la pared del cilindro y las patas delanteras del animal rompen la superficie del agua. Estos comportamientos solamente eran analizados en la fase de test.

Test de suspensión de la cola (TST o en inglés, Tail Suspension Test)

El test de suspensión de la cola (TST, Steru et al., 1985) también es efectivo para valorar el efecto antidepressivo de fármacos al medir conductas “*depressive-like*” en animales. Al igual que el FST, este test también se usa para evaluar el estado depresivo en animales sometidos a algún paradigma para inducir este estado (Castagné et al., 2011). La prueba se basa, al igual que en FST, en la desesperación conductual que sufren los animales cuando se les coloca en una situación estresante de la que no pueden escapar (Cryan et al., 2005). En este caso, la situación estresante nace de la tensión hemodinámica que sufren los animales al estar colgados de la cola durante la duración del test (Thierry et al., 1986). Es importante que durante la prueba se mantengan suspendidos en el aire en una posición en la cual no puedan escapar o agarrarse a superficies cercanas.

Materiales

- Caja de madera (70 x 40 x 50 cm) donde era introducido el recipiente con agua.
- Barra metálica (25 cm de largo y situada a una altura de 45 cm).
- Tira led para iluminar la caja.
- Cinta adhesiva de color gris oscuro.

Procedimiento

1. Antes de comenzar se preparaba un trozo de cinta adhesiva de aproximadamente 1 cm de alto y 3 cm de largo.
2. La cámara era conectada y se iniciaba la grabación. El test era registrado con un plano

general (muestra todo el cuerpo del animal y los detalles de la caja, como la barra) perpendicular al cuerpo del animal. La grabación se realizaba desde un agujero situado en uno de los laterales de la caja de madera, el cual contaba con un soporte que sujetaba la videocámara.

3. El animal era sacado de su caja y rápidamente se colocaba la cinta adhesiva en el extremo distal de la cola y se unía a la barra donde permanecería suspendido bocabajo durante 6 minutos (Can et al., 2012). Es importante colocar al animal en una posición en la cual no pueda agarrarse o tocar las paredes de la caja.
4. Una vez pasado tiempo, se retiraba la cinta adhesiva con suavidad y el animal era devuelto a su jaula.

Criterios de exclusión

Si el animal se subía por su propia cola y alcanzaba la barra era excluido del análisis posterior.

Variables medidas

Las medidas principales obtenidas de este test fueron dos: el tiempo de movilidad o tiempo que el animal luchaba por incorporarse, llegar a una de las paredes o subirse por su propia cola; y el tiempo de inmovilidad en el cual el animal colgaba de la cola sin realizar ningún movimiento.

Prueba de alimentación suprimida por la novedad (o en inglés, Novelty suppressed feeding test)

El fundamento de este test (al que nos referiremos en el texto de la Tesis Doctoral como *Novelty*) se basa en el fenómeno de hiponeofagia, el cual se define como la inhibición de la alimentación producida por la exposición a una novedad, como puede ser un ambiente desconocido o una comida nueva (Dulawa & Hen, 2005). Esta prueba inicialmente fue utilizada para estudiar la eficacia de tratamientos ansiolíticos (Shephard & Broadhurst, 1982) pero actualmente se suele usar para determinar la eficacia de tratamientos que generan depresión, como los realizados con corticosterona (D. J. David et al., 2009; Stedenfeld et al., 2011; Fukumoto et al., 2014; Camargo et al., 2019; Pazini et al., 2020; X. H. Tang et al., 2020).

Materiales

- Caja cuadrada de metacrilato de color negro (50 x 50 cm de base y 45 cm de altura).
- Tamiz.
- Viruta.
- Pellet de comida.
- Bombilla de 3452 lúmenes (200 W).
- Luxómetro (DVM1300; Velleman).
- Cronómetro.

Procedimiento

1. 24 horas antes del test el animal era retirado de su jaula y con un tamiz se separaba la viruta de la comida. La viruta se depositaba de nuevo en la jaula y la comida era eliminada y guardada para el día siguiente.
2. El fondo de la caja era llenado de viruta limpia (aproximadamente 1 cm).
3. Se conectaba la bombilla y la luz era guiada hacia el centro de la caja.
4. Se media la potencia de la luz con el luxómetro y se ajustaba para que el centro de la caja tuviera aproximadamente una intensidad de 1200-1500 luxes y las esquinas 550-650 luxes. Si la intensidad no era esa, se corregía la posición de la caja y se volvían a medir la intensidad lumínica del centro y de la periferia hasta que se consiguiese la intensidad deseada.
5. En el centro de la caja se situaban dos placas Petri de diferentes tamaños. La primera de ellas, de 12 cm de diámetro, era de color blanco para que la luz se revotase sobre ella y hacer aún más aversiva la zona donde se situaba la comida. La segunda de 5 cm de radio, estaba situada en el centro de la primera y contenía un soporte donde se colocaría el pellet de comida para que el animal no pudiera sacarlo de la zona central.
6. Se colocaba el pellet de comida en el centro.
7. La cámara era conectada y se iniciaba la grabación. El test era registrado en plano cenital (encuadrado con un ángulo de 90° perpendicular al suelo de la caja) desde un soporte situado encima de la caja.
8. El animal era sacado de su jaula e introducido en la caja por una de las esquinas. El tiempo total del test eran 10 minutos.
9. Una vez acabado el test, el animal era sacado de la caja de metacrilato y devuelto a su jaula, donde ya había comida.
10. Una vez el animal estaba en su jaula y con el fin de asegurarse que el tratamiento no había reducido el apetito del animal (referencia) durante los siguientes minutos se observaba y cronometraba el tiempo que el animal tardaba en volver a comer.

Variables medidas

El test se analizó siguiendo las indicaciones de Blasco-Serra et al. (2017). La principal medida, y que se evalúa en la mayoría de trabajos, es el tiempo que tardaba el animal en comer por primera vez (es decir, la latencia a comer). Sin embargo, nosotros decidimos tomar otras medidas que podrían aportar más información. Estas fueron: el tiempo que el animal permanecía dentro de la zona central, delimitada por la placa Petri de color blanco; y el tiempo que el animal estaba explorando la comida.

A partir de estas se obtuvieron otras, como, por ejemplo: la latencia a entrar en la zona central o a la zona de la comida por primera vez; la frecuencia o transiciones a ambas zonas; y el porcentaje de tiempo que pasaban en esas zonas respecto de la duración total del test.

Análisis de la conducta

La cuantificación precisa del comportamiento es esencial para entender el cerebro (Krakauer et al., 2017). Por esta razón, una vez realizadas las pruebas conductuales se realizó el análisis de las variables comportamentales descritas en el apartado anterior. Para ello se utilizaron dos programas: *Solomon Coder* y *DeepLabCut*.

Solomon Coder es un programa para codificar comportamientos de manera manual. Antes de comenzar se deben definir los comportamientos o eventos de interés que se quieren registrar y las variables (frecuencias, duraciones, latencias, porcentajes, etc.) que se quieran obtener. Una vez cargado el vídeo, y tras comenzar la reproducción, se deben ir marcando de manera manual los comportamientos a través de teclas preasignadas para cada conducta.

El análisis manual puede conducir a errores como el sesgo del observador. Este ocurre cuando el investigador influye de manera inconsciente o deliberada en los resultados. Para corregirlo se utilizó un método ciego, es decir, la persona que analizó el vídeo desconocía la condición experimental del animal cuya conducta estaba siendo evaluada.

Este programa se utilizó únicamente para medir los comportamientos atáxicos y estereotípicos debido a la dificultad del análisis.

DeepLabCut (Mathis et al., 2018) es una herramienta de desarrollo reciente, basada en métodos de *Deep learning*, y utilizada para el análisis de la conducta/postura de los animales. A partir de un conjunto de *frames* se puede crear una red de entrenamiento que permitirá conocer la posición, a través de coordenadas, de los puntos etiquetados.

De manera breve, para conseguir las coordenadas es necesario extraer y etiquetar un número de *frames* de los vídeos. Estos *frames* se obtienen de manera aleatoria a través del método *k-means* y manualmente el investigador deberá definir y etiquetar los puntos de interés en los que se quiera obtener las coordenadas. En nuestro caso, el etiquetado se realizó en diferentes partes del animal, como, por ejemplo, la cabeza y la cola. También se etiquetaron zonas de los dispositivos o cajas en que se realizaron los test conductuales, como las esquinas de las cajas o las paredes.

DeepLabCut es una herramienta muy útil, ya que una vez entrenada la red se pueden analizar múltiples vídeos e incluso, si el etiquetado no es preciso, la red puede ser reentrenada (Nath et al., 2019). Otra de sus ventajas, es que no produce resultados sesgados lo que puede ocurrir en los análisis manuales.

La principal limitación de del programa es la capacidad de procesamiento que necesita, por esta razón, los entrenamientos de la red se realizaron a través del clúster de la unidad de Bioinformática y Bioestadística del Centro de Investigación del Príncipe Felipe. Este clúster informático cuenta con 44 nodos informáticos que tienen un total de 600 CPUs y una memoria RAM de 11 Terabytes (CIPF, 2022).

Una vez entrenada la red, *DeepLabCut* ofrece una serie de parámetros, como el “*Train Error*” (Este error se obtiene cuando se ejecuta el modelo entrenado con los datos del entrenamiento. Concretamente es la comparación de la distancia entre los *frames* etiquetados por el usuario con los etiquetados por *DeepLabCut*) o “*Test Error*” (Este error se obtiene cuando se ejecuta el modelo entrenado con un conjunto de datos diferentes a los del entrenamiento), que permite a los investigadores comprobar la calidad del etiquetado. Ambos parámetros proporcionan una medida en píxeles de la diferencia entre los *frames* etiquetados manualmente y los etiquetados por la inteligencia artificial.

No existe un límite fijado para estimar si estos valores representan un buen etiquetado o no, por ello, es necesario revisar las grabaciones y comprobar y corregir si es necesario. Aún no existiendo este límite, en este trabajo se consideró que, si el valor del “*Train Error*” o “*Test Error*” era mayor a 10 píxeles, la red sería reentrenada. En la **Tabla MM.3** se muestran estos valores, junto al número de entrenamientos y el número de interacciones (número de veces que se entrena la red) que se realizaron en cada experimento conductual.

Una vez finalizado el entrenamiento y analizados los vídeos se obtenía las coordenadas X (eje de abscisas) e Y (eje de ordenadas) de los puntos etiquetados para cada uno de los *frames* del vídeo, y la probabilidad (entre 0 y 1, siendo 1 la probabilidad más alta) del que el punto etiquetado por la red coincidiera con el punto etiquetado por el investigador. Para trabajar con esta lista de coordenadas y analizar los comportamientos de interés, se desarrollaron rutinas propias en *RStudio* y se adaptaron algunas de las diseñadas por Sturman et al. (2020).

Tabla MM.3: *Entrenamientos, interacciones y valores de error obtenidos tras el entrenamiento de la red en cada uno de los test conductuales*

Test	Entrenamiento de la red	Interacciones	<i>Train error</i>	<i>Test error</i>
OMaze	1	160000	3.04	14.65
	2	160000	3.12	3.19
	3	160000	5.48	5.8
	4	180000	5.96	6.14
NORT	1	300000	1.88	7.42
	2	300000	2.03	2.1
	3	580000	1.74	2.4
FST	1	200000	11.45	20.26
	2	200000	7.06	13.98
	3	200000	6.06	8.35
TST	1	180000	2.03	68.93
	2	180000	10.93	5.17
	3	160000	3.39	3.15
	4	160000	4.37	4.01
	5	160000	7.55	9.79
	6	160000	7.52	5.76
	7	160000	2.64	2.64
Novelty	1	500000	3.7	3.73
	2	500000	1.7	0.73

Nota: la unidad de medida de los parámetros *train error* y *test error* es el píxel

Procedimiento comunes a todos los análisis

El análisis de los datos obtenidos por *DeepLabCut* se realizó utilizando el programa *RStudio* (v. 2022.12.0 + 353). Las funciones que se describen a continuación fueron empleadas para

todos los análisis.

En primer lugar, se calculó y calibró la distancia entre diferentes puntos marcados para obtener el valor en centímetros de cada uno de los píxeles del vídeo utilizando la función “**Calibrate-TrackingData**” diseñada por Sturman et al. (2020). Esta función puede calcular la distancia a través de dos métodos: utilizando el área (solo si es un cuadrado o un rectángulo) o la distancia entre dos puntos.

Para la transformación de píxeles a centímetros utilizando la distancia entre dos puntos se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Equivalencia de píxel a cm} = \frac{\text{distancia (A, B) en cm}}{\bar{d}(px)}$$

donde \bar{d} representa la media de todas las distancias entre ambos puntos y se calcula como:

$$\bar{d}(px) = \frac{\sum_{i=1}^n d_{(A,B)}}{n}$$

y donde $d_{A,B}$ indica la distancia entre los dos puntos y se calcula a través de la siguiente fórmula:

$$d_{(A,B)} = \sqrt{(X_A - X_B)^2 + (Y_A - Y_B)^2}$$

Para la transformación de píxeles a centímetros utilizando el área de un cuadrado/rectángulo se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Equivalencia de píxel a cm} = \frac{\text{Área real en cm}}{\text{Área del cuadrado/rectángulo en px}}$$

donde las áreas se calculan a través de las siguientes fórmulas:

$$\text{Área de cuadrado} = \text{lado}^2$$

$$\text{Área de rectángulo} = \text{base} \cdot \text{altura}$$

También se eliminaron e interpolaron las coordenadas que tenían una probabilidad menor al 0.95 de haber sido etiquetadas correctamente utilizando el paquete de R *imputeTS* (v 2.7. Moritz & Bartz-Beielstein, 2017). Concretamente se utilizó la función **na_interpolation** a través del método lineal. La interpolación lineal es un método de ajuste a una curva mediante polinomios lineales que nos ayuda a crear nuevos datos. En nuestro caso, los valores con una probabilidad menor de 0.95 fueron sustituidos por valores vacíos o *NA* y fueron cambiados por los valores interpolados.

Todos los cálculos fueron realizados en cada uno de los *frames* del vídeo, por lo tanto, para obtener el valor en segundos de las variables medidas en los test, los valores obtenidos para

cada conducta fueron divididos entre el número de *frames* que había en un segundo (este valor fue de 30, ya que todos los videos fueron grabados a 30 *frames* por segundo; fps)

Para algunas de las conductas estudiadas, como la locomoción o la inmovilidad, fue necesario calcular la velocidad de algunos de los puntos etiquetado en el animal. La velocidad instantánea ($v(t)$) medida cm/seg se calculó a través de la función ***Calculate Movement*** desarrollada por Sturman et al. (2020) que utilizaba la siguiente fórmula:

$$v(t) = \frac{d}{dt}x(t)$$

Es decir, la velocidad instantánea $v(t)$ de un objeto es la derivada de la posición (x) con respecto a al tiempo (t).

La función anterior disponía de dos variables “*movement_cutoff*”, la cual define el umbral, en cm/seg a partir del cual se considera que el punto está en movimiento; e “*integration_period*”, que indica durante cuantos \pm fotogramas se debe cumplir el umbral de “*movement_cutoff*”, es decir, cuantos cm/seg. Dado que cada test se realizó en diferentes superficies, y la distancia/ángulo de la cámara con el animal también era distinta, se definió un umbral para considerar si el animal se estaba moviendo o no, diferente para cada test.

Por último, para confirmar la presencia o la ausencia de una coordenada dentro de una de las áreas construidas a través de la función ***AddZones*** (Sturman et al., 2020) se utilizó la función “*point.in.polygon*” del paquete “*sp*” (v 1.4-6. Pebesma & Bivand, 2005). La función ***AddZones*** crea una matriz de datos que contiene las coordenadas X e Y promedio de los puntos definidos dentro de la función.

Análisis del test OMaze

Para este test se definieron y etiquetaron un total de 27 puntos en el laberinto (**Figura MM.19a1**) y 7 puntos en el ratón (**Figura MM.19a2**). Se cargó el documento de coordenadas, se interpolaron y se realizó la conversión píxeles a centímetros usando las coordenadas de dos puntos paralelos situados en los bordes del corredor y que estaban separados por una distancia de 7 cm. El valor de un píxel fue aproximadamente de 0.06 cm.

Para conocer el tiempo que el animal estaba dentro de los brazos abiertos o cerrados se definieron dos áreas, que abarcaban todo el espacio de los brazos abiertos (**Figura MM.19b1**). Se utilizaron los puntos del cuerpo y la base de la cola del animal para poder determinar cuando estaba en los brazos abiertos o en los brazos cerrados, de tal manera que se consideró que el animal estaba en los brazos abiertos cuando ambos puntos se encontraran en alguna las áreas abiertas delimitadas anteriormente.

Por otro lado, la latencia a entrar por primera vez en un área abierta se definió como el tiempo al que se detecta el primer frame en el cual ambos puntos, cuerpo y base de la cola, se encontraban en alguna de las dos áreas abiertas. Para contar el número de veces que el animal pasaba de espacio cerrado a abierto se localizaron los *frames* en que punto de cuerpo cola estuvieran en el brazo cerrado y en el siguiente en el brazo abierto (**Figura MM.19b1 y b2**).

Para la conducta de SAPs, se utilizaron los puntos de la nariz, la cabeza y el cuello. Así, para contar que se había producido esta conducta, estos puntos debían estar dentro de alguna de las zonas abiertas del laberinto mientras el del cuerpo y la cola permanecían dentro de los brazos

cerrados. El número de SAPs que realizaba el ratón venía marcado como la ausencia de SAPs en un frame y la presencia de esta conducta en el siguiente (**Figura MM.19b3**).

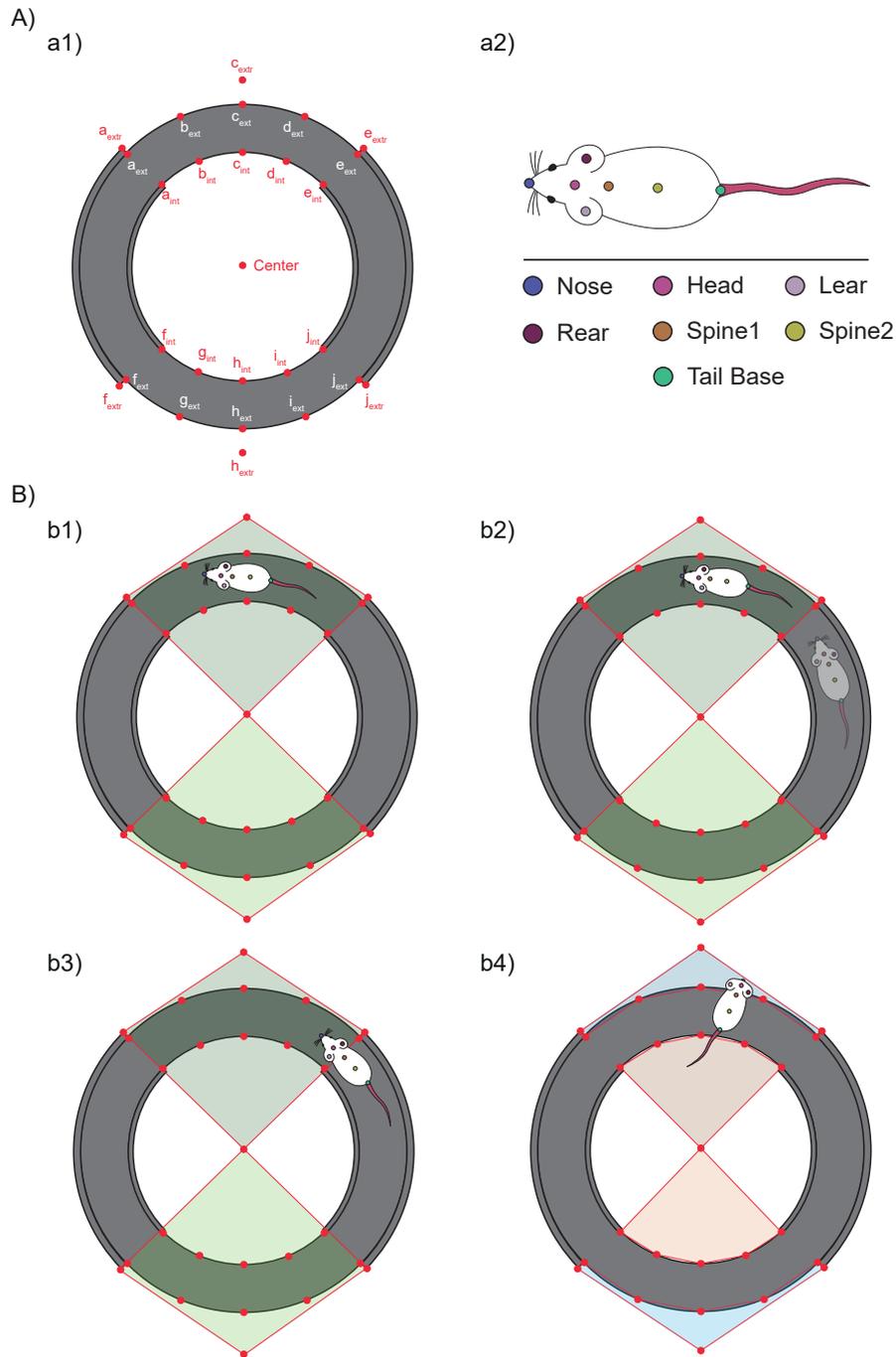


Fig. MM.19: Puntos etiquetados y análisis realizado en el test *OMaze*. A) Se etiquetaron un total de 27 puntos en el laberinto (**a1**) y 7 en el ratón (**a2**) para poder analizar la conducta mediante el uso de *DeepLabCut* y *RStudio*. B) Para analizar las conductas de interés se crearon un total de 6 áreas (representadas a través de diferentes colores) con los diferentes puntos etiquetados. La conductas analizadas fueron el tiempo que el animal pasaba en los brazos abiertos (el animal debía estar en uno de los brazos abiertos. **b1**), las transiciones entre los brazos abiertos y cerrados (el animal debía estar en uno de los brazos cerrados en un frame y en uno de los brazos abiertos en el siguiente, **b2**), los SAPs (la parte delantera del cuerpo del animal debía estar en los brazos abiertos y la trasera en los brazos cerrados. **b3**) y las miradas al precipicio (la cabeza del animal debía estar en una de las áreas marcadas en la **b4**).

Por último, para analizar el número de veces que el animal miraba hacia el precipicio, se definieron cuatro nuevas áreas. El punto etiquetado en la cabeza del animal fue el que se consideró para determinar la realización de la conducta. Si este punto se encontraba fuera de alguna estas nuevas áreas en un frame, pero dentro de ellas en el siguiente, se etiquetaba como que la conducta había sido realizada (**Figura MM.19b4**).

El código utilizado para el análisis se encuentra detallado y explicado en profundidad en el **Anexo II**.

Análisis del test NORT

Para este test se definieron y etiquetaron las cuatro esquinas de la caja (**Figura MM.20a1**), 2 puntos en cada uno de los objetos (**Figura MM.20a2**) y 4 puntos en el ratón (**Figura MM.20a3**). Se cargó el documento de coordenadas, se interpolaron y se realizó la conversión píxeles a centímetros usando las coordenadas de las 4 esquinas contiguas, siendo la área total de 50*50 cm. El valor de cada píxel fue aproximadamente de 0.11 cm.

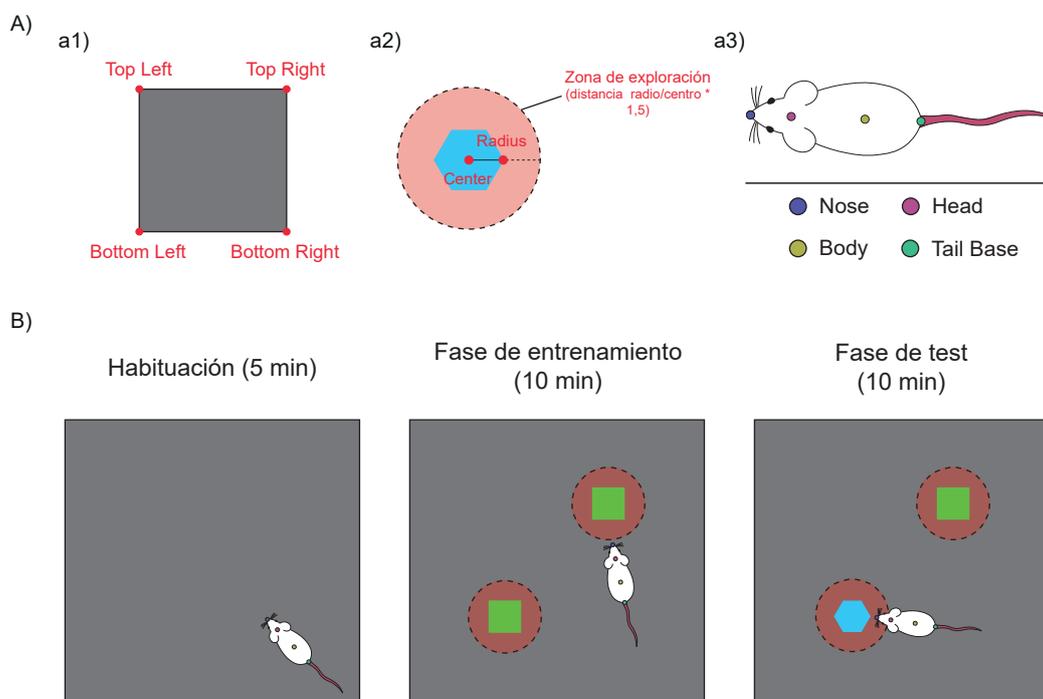


Fig. MM.20: Puntos etiquetados y análisis realizado en el test NORT. **A)** Se etiquetaron un total de 4 puntos en la caja de conducta (**a1**); 2 en el objeto (desde los cuales se delimitó el área o zona de exploración. (**a2**) y 4 en el ratón (**a3**) para poder analizar la conducta mediante el uso de *DeepLabCut* y *RStudio*. **B)** El test consistió en 2 fases diferentes, con un periodo de habituación inicial: la fase de entrenamiento, en la cual en la caja hay dos objetos iguales; y la fase de test, donde uno de los objetos había sido cambiado por otro nuevo. En la imagen, se puede representado en esta última fase lo que sería considerado comportamiento de exploración de los objetos. Para ello, el la nariz del animal debía estar dentro de la zona de exploración.

A continuación, se calculó la distancia que existía entre la nariz y el centro del objeto en todos los *frames*, y se consideró que el animal estaba explorando cuando esta distancia era menor al valor del área de exploración del objeto (**Figura MM.20B**). El área de exploración de cada uno de los objeto fue calculada a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Área de exploración} = d_{(\text{radio,centro})} * 1.5$$

Para obtener el tiempo de exploración de cada uno de los objetos en segundos, se sumaron todos los *frames* en los que se cumplía la condición de exploración y se dividieron entre el número de *frames* que había en un segundo (30 fps). Esto mismo se hizo para calcular la evolución temporal de la exploración minuto a minuto, pero en este caso, la matriz de coordenadas principal fue dividida en 10 (cada división correspondía a un minuto).

Por último, la locomoción fue calculada a través de la función *CalculateMovement* y se estableció el umbral de movimiento a 5 cm/seg. Al igual que en la exploración temporal, la locomoción fue calculada minuto a minuto.

El código utilizado para el análisis se encuentra detallado y explicado en profundidad en el **Anexo III.**

Análisis del test FST

Para esta prueba se adaptó el código original creado por Sturman et al. (2020). Con él se analizaron las conductas de natación e inmovilidad. Para la conducta de escalada se crearon rutinas propias.

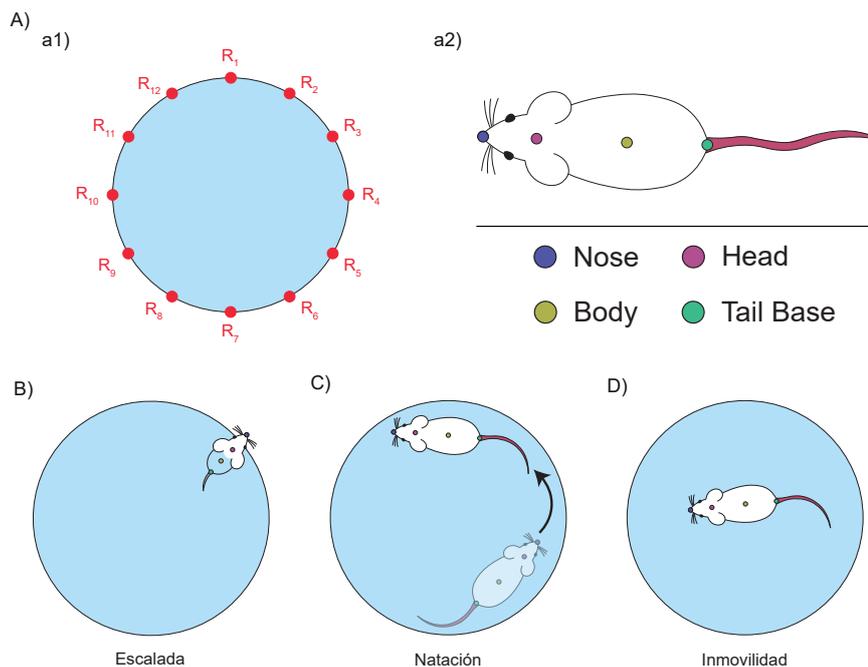


Fig. MM.21: Puntos etiquetados y análisis realizado en el test FST. A) Se etiquetaron un total de 12 puntos en entre superficie del agua y las paredes del recipiente (a1) y 4 en el ratón (a2) para poder analizar la conducta mediante el uso de *DeepLabCut* y *RStudio*. Se cuantificaron 3 tipos de conductas en este test: B) escalada, en la cual la nariz del animal debía estar fuera de la circunferencia creada por los puntos etiquetados en el recipiente de agua, C) natación, en la cual la velocidad del punto central del cuerpo del ratón debía superar el umbral de movimiento establecido; D) y la inmovilidad; en este caso la velocidad del punto central del cuerpo del ratón debía estar por debajo del umbral de movimiento establecido.

Se cuantificaron 3 tipos de conductas en este test: B) escalada, en la cual la nariz del animal debía estar fuera de la circunferencia creada por los puntos etiquetados en el recipiente de

agua, **C**) natación, en la cual la velocidad del punto central del cuerpo del ratón debía superar el umbral de movimiento establecido; **D**) y la inmovilidad; en este caso la velocidad del punto central del cuerpo del ratón debía estar por debajo del umbral de movimiento establecido.

En nuestro caso se definieron y etiquetaron 12 puntos en el cilindro donde el animal tenía que nadar (**Figura MM.21a1**) y, a diferencia de los autores originales, 4 puntos en el ratón (**Figura MM.21a2**). Se cargó el documento de coordenadas, se interpolaron y se realizó la conversión píxeles a centímetros usando las coordenadas de dos puntos contrapuestos etiquetados en el cilindro con agua, siendo la distancia entre ellas de 20 cm. El valor de un píxel fue aproximadamente de 0.1 cm.

El primer comportamiento que se analizó fue el de escalada. Para ello, se definió un área formada por los 12 puntos etiquetados en el cilindro y se utilizó el punto etiquetado en la nariz del animal para definir esta conducta. Se contabilizó *frame* a *frame* si la nariz estaba dentro o fuera del área y se sumaron todos los valores en los que se encontraba fuera del área (**Figura MM.21B**).

Para la natación y la inmovilidad se calculó la velocidad del punto del cuerpo y se fijó un umbral de 0.02 cm/seg que delimitó ambas conductas. La natación se calculó a través del sumatorio de todos los *frames* que sobrepasaban el umbral establecido, pero se le restó el tiempo de escalada ya que ambas conductas, al ser conductas activas que implicaban movimiento del cuerpo, solapaban en el tiempo. El tiempo de inmovilidad, al contrario que para la natación, fue el sumatorio de los *frames* en los que la velocidad, estaba por debajo del umbral establecido (**Figura MM.21C y D**).

El código utilizado para el análisis se encuentra detallado y explicado en profundidad en el **Anexo IV**.

Análisis del test TST

Para este test se definieron y etiquetaron 2 puntos en la barra en la cual se mantuvo suspendido el ratón, y 4 puntos en el animal (**Figura MM.22A**). Se cargó el documento de coordenadas, se interpolaron y se realizó la conversión píxeles a centímetros usando las coordenadas de dos puntos etiquetados en la barra, siendo la distancia entre ellas de 25 cm. El valor de un píxel fue aproximadamente de 0.02 cm.

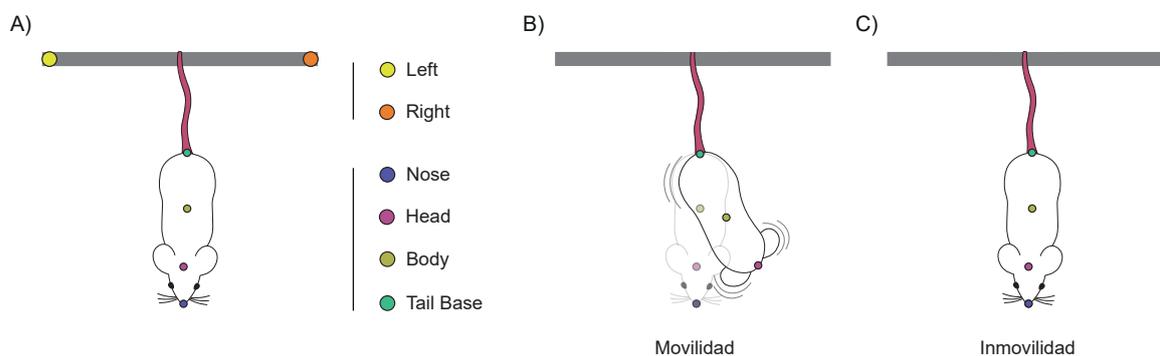


Fig. MM.22: Puntos etiquetados y análisis realizado en el test TST. A) Se etiquetaron 2 puntos en la barra en la cual era colocado el ratón, para poder realizar la calibración de los píxeles; y 4 en el ratón para poder analizar la conducta mediante el uso de *DeepLabCut* y *RStudio*. Se cuantificaron únicamente 2 de conductas en este test: B) La movilidad, en la cual la velocidad de los puntos de la cabeza, la nariz y el etiquetado en el centro del cuerpo del ratón debía superar el umbral de movimiento establecido; y C) la inmovilidad; en este caso la velocidad de los tres puntos anteriores debía estar por debajo del umbral establecido.

Al igual que en los apartados anteriores se calculó la velocidad de los puntos etiquetados y se consideró que el animal se estaba moviendo cuando de los puntos superaban el umbral de 2 cm/seg (**Figura MM.22B**). Se consideró que el animal estaba inmóvil cuando la cabeza, el cuerpo y la nariz se encontraban por debajo de ese umbral, si alguno de estos puntos superaba el umbral, el *frame* era catalogado como movilidad (**Figura MM.22C**).

El código utilizado para el análisis se encuentra detallado y explicado en profundidad en el **Anexo V**.

Análisis del test Novelty

Para este test se definieron y etiquetaron las 4 esquinas de la caja (**Figura MM.23a1**), 8 puntos en la placa Petri externa, 8 en la interna (**Figura MM.23a2**) y cuatro puntos en el ratón (**Figura MM.23a3**). Se cargó el documento de coordenadas, se interpolaron y se realizó la conversión píxeles a centímetros usando las coordenadas de dos esquinas contiguas, siendo la distancia entre ellas de 50 cm. El valor de un píxel fue aproximadamente de 0.09 cm.

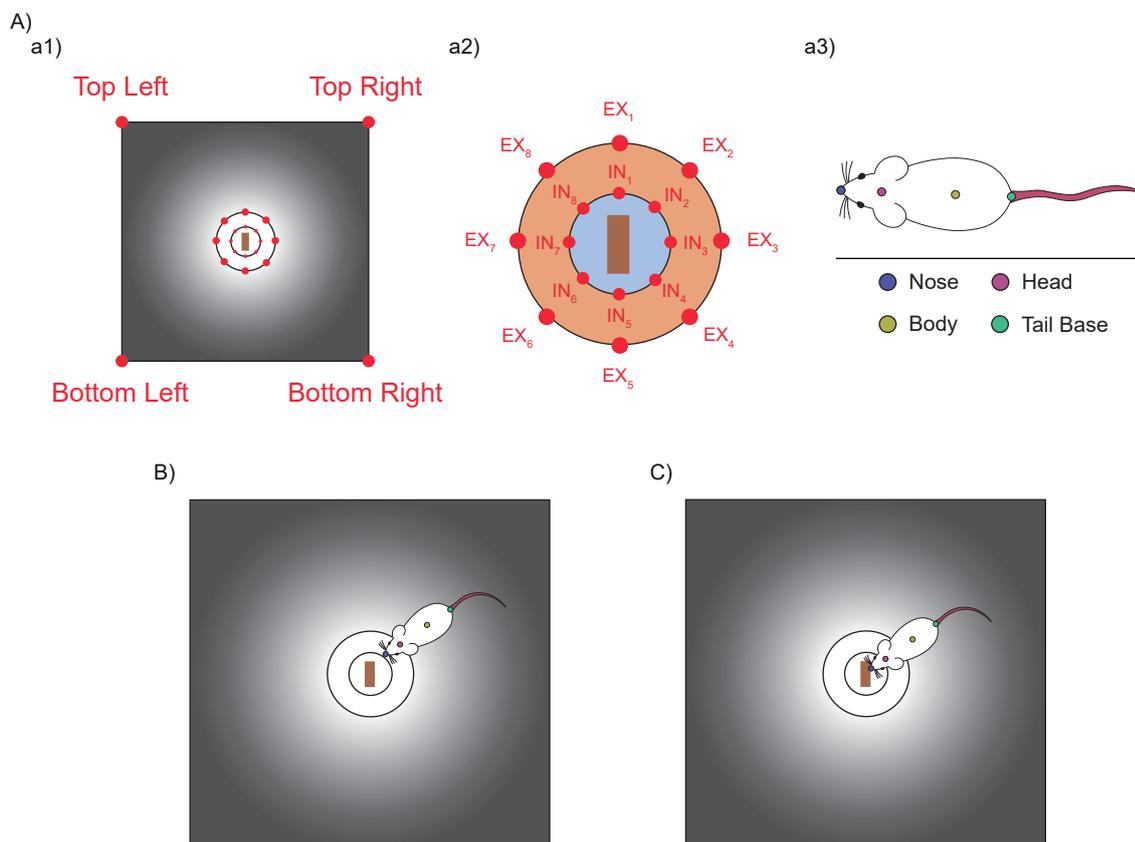


Fig. MM.23: Puntos etiquetados y análisis realizado en el test Novelty. **A)** Se etiquetaron 4 puntos en la caja de conducta (**a1**); 8 en la placa Petri externa; 8 en la interna (los cuales delimitarían la zona de la comida y la zona central del test. **b2**); y 4 en el ratón (**a3**) para poder analizar la conducta mediante el uso de *DeepLabCut* y *RStudio*. **B** y **C**) Las conductas medidas dentro de este test dependían fundamentalmente de la posición del punto etiquetado en la nariz y en la cabeza del animal. La presencia dentro de los puntos de la placa Petri externa del punto etiquetado la cabeza del animal determinaba la exploración del animal en la zona central. En el caso de la de la zona de la comida, el punto etiquetado en la nariz debía estar dentro de la zona delimitada por puntos etiquetados en la placa Petri interna.

En primer lugar, se definieron 2 zonas: la zona central, la cual corresponde a la superficie completa de la placa Petri externa (incluyendo la placa de Petri interna) y construida con los 8 puntos que están etiquetados a su alrededor; y la zona de la comida, que está delimitada por los 8 puntos etiquetados alrededor de la segunda placa Petri (**Figura MM.22a2**).

Se comprobó en cada uno de los *frames* donde estaba la cabeza del animal y posteriormente se calculó el tiempo que había estado en cada una de estas áreas. La latencia a entrar en alguna de estas áreas fue el primer *frame* en el cual la cabeza (para la zona central. **Figura MM.23B**) o la nariz (para la zona de la comida. **Figura MM.23C**) del animal estaba en ellas.

Las transiciones o frecuencias entre áreas fueron calculadas teniendo en cuenta la posición de la cabeza/nariz en el *frame* actual y 2 *frames* más a parte del actual. El número total de transiciones entre las áreas fue calculado como el sumatorio de todas las veces que se cumplieron estas condiciones.

Por último, el porcentaje de tiempo se calculó dividiendo el tiempo que pasaba el animal en cada una de las zonas entre el tiempo total del test.

El código utilizado para el análisis se encuentra detallado y explicado en profundidad en el **Anexo VI**.

Análisis Molecular: Extracción de proteínas y Western Blot

El Western Blot (Towbin et al., 1979) es una técnica que tiene como objetivo la detección/identificación cualitativa o semicuantitativa de niveles de proteínas en muestras biológicas a través de su peso molecular. Para ello, se separan las proteínas mediante un proceso de electroforesis en función de su tamaño y posteriormente se detectan por inmunodetección selectiva de antígenos o *immunoblot* (Hirano, 2012; Hnasko & Hnasko, 2015; Esteve, 2021). A través de la cuantificación de la luminiscencia, se establece una relación proporcional entre los niveles de la proteína y la intensidad de la señal emitida (Hirano, 2012; Hnasko & Hnasko, 2015; Esteve, 2021).

El experimento se inició con la administración de sustancias y el posterior sacrificio de animales mediante dislocación cervical a los tiempos correspondientes (experimento II). A continuación el cerebro extraído; se eliminaban el cerebelo y el tronco del encéfalo (**Figura MM.24A**) y se realizaba un corte sagital por la línea media (Figura 2.24B). A partir de ahí, uno de los hemisferios se utilizó para la extracción del HPC y el otro para obtener PFC (**Figura MM.24C y D**) tal y como se detalla a continuación.

Para realizar la extracción del hipocampo se siguieron las directrices publicadas en *EJNeuroscience* en 2015 (<https://youtu.be/Upf15CB29V4>), en formato vídeo. De manera breve, una vez seccionado por la línea media el cerebro del animal, uno de los hemisferios era apoyado sobre su parte lateral, quedando así expuesta su cara medial (Figura 2.24C) superior, línea de puntos). Sobre esta perspectiva sagital se buscaba el cuerpo calloso (se identifica fácilmente debido a su color blanco), y se busca el extremo posterior de este. Desde ahí se introduce uno de los cuchilletos (modelo de incisión de 22.5°, Equipsa, Madrid) mientras con el otro se remueve el tálamo, el hipotálamo y el área preóptica (**Figura MM.24C** superior, línea de puntos). Una vez eliminadas se podrá visualizar el hipocampo y con uno de los cuchilletos se extraerá (**Figura MM.24C** inferior).

Para la extracción de la corteza prefrontal, sobre la cara medial se buscaba el cuerpo calloso y se corta con los cuchilletos por delante (**Figura MM.24D**, número 1) y por debajo de él

(Figura MM.24D, número 2), para eliminar aquello posterior e inferior a la región de interés. Así, al voltear hacia la izquierda la pieza obtenida, vemos la PFC desde una perspectiva coronal y se puede distinguir en ella el fórceps menor del cuerpo caloso (fmi del inglés, *forceps minor of the corpus callosum*. Figura MM.24E), también de un color blanco. Una vez localizado se realizarán dos cortes más, utilizando el fórceps como referencia: uno horizontal, uno sobre el fmi (Figura MM.24E, número 3) y el último de estos será un corte sagital en su parte medial (Figura MM.24E, número 4).

Una vez extraídas las áreas de interés, éstas eran congeladas en hielo seco y mantenidas en un congelador de -80° hasta su procesado. Estos pasos fueron llevados a cabo por el autor de la Tesis Doctoral, junto a la elección de proteínas a cuantificar y el análisis estadístico de los datos.

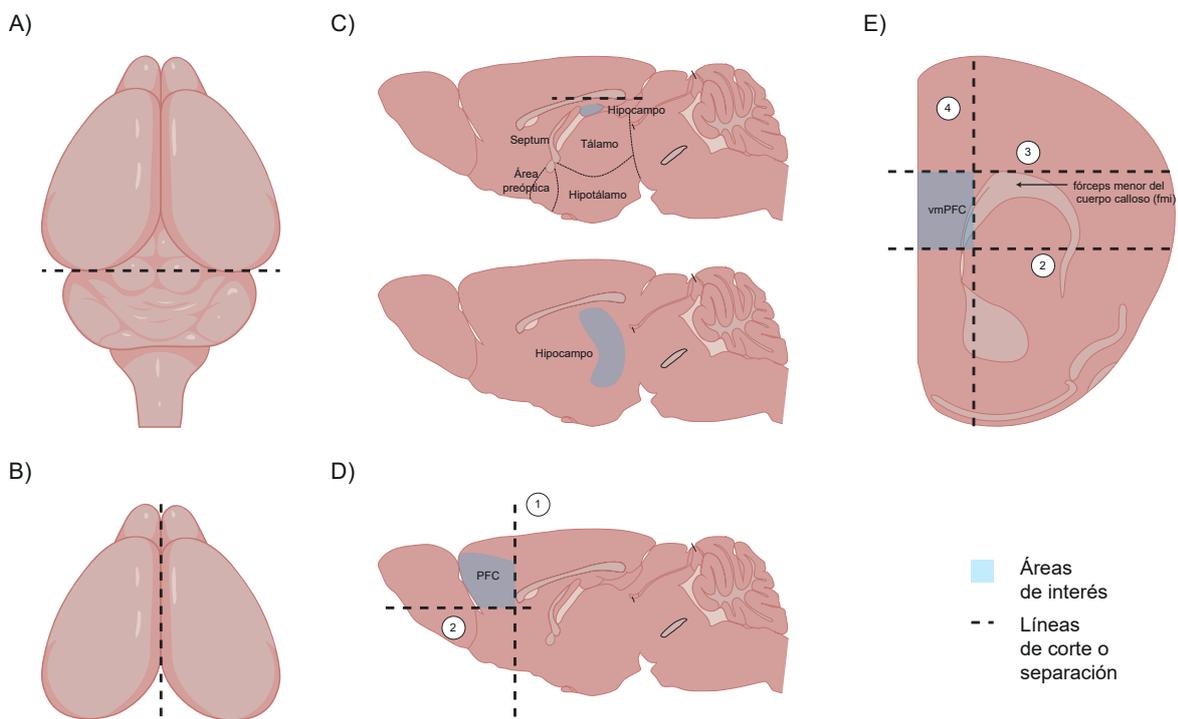


Fig. MM.24: Extracción del HPC y la PFC A y B) Visión superior del cerebro de un ratón. Los primeros pasos de la disección consisten en la eliminación del cerebelo y el tronco del encéfalo (A) y la separación, por la línea media, de los hemisferios cerebrales (B). C) Cara medial del cerebro del ratón. En ella se pueden observar zonas como: el cuerpo caloso, la parte dorsal del hipocampo (azul), el tálamo, el septum, el hipotálamo y el área preóptica. Para la extracción del hipocampo es necesaria la eliminación de estas áreas. D) Cara medial del cerebro del ratón, en esta figura se puede observar la corteza prefrontal (PFC, azul). Para su extracción es necesario eliminar las partes que se encuentran posteriores (1) e inferiores (2) a este área. E) Visión coronal de la PFC. En ella se puede identificar el fórceps menor del cuerpo caloso (fmi), el cual utilizaremos de referencia para extraer la parte dorsoventral de la PFC. Para ello se realizarán 2 cortes: uno horizontal, sobre el fmi (3) y el último de estos será un corte sagital en la parte medial del fmi (5). Aunque en la imagen se puede observar la parte basal de la PFC, esta ha sido removida tras la segunda incisión (2). Adaptada de Paxinos & Franklin (2008).

A partir de aquí, se siguió el procedimiento que se describe a continuación. En la primera parte del procesado se llevó a cabo la homogenización del tejido. Para este proceso se realizó en primer lugar un tampón de homogenización a una concentración de 1:15 compuesto de: 10 mM de tampón HEPES (pH 7.9); 1.5 mM de cloruro de magnesio (MgCl₂); 100 mM de cloruro de

potasio (KCl), 1 mM de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF); 0.2 mg/mL de aprotinina; 10 μ g/mL de leupeptina-A; 10 μ g/mL de inhibidor de proteasa; 10 μ g/mL de quimostatina; 1 mM de ortovanadato de sodio (Na₃VO₄); y 1 mM de fluoruro sódico (NaF).

Las muestras se sonicaron en tampón de lisis (tampón de homogenización descrito en el párrafo anterior más un 1% de Igepal[®]; 0.5% de desoxicolato sódico; 0,1% de SDS; y 2,5 mM de CHAPS) enfriado con hielo durante 30 minutos. Pasado este tiempo los homogeneizados se centrifugaron durante 10 minutos a 14000 rpm y se recogieron los sobrenadantes. Se determinó la concentración de proteínas que tenía cada uno de los homogenados a través del método de *Lowry*. Para cada muestra se separaron 55 μ g de proteína, se le añadió el tampón de carga 2 \times (Laemmli Buffer 1610737. BIO-RAD, Bio-Rad, Hercules, CA, EE.UU.) y 2-Mercaptoethanol. Tras esto se cargó la muestra en geles de SDS-PAGE (10% de acrilamida) y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (BIO-RAD, Hercules, CA, EE.UU.).

El paso de bloqueo se realizó con leche desnatada al 5% para las proteínas no fosforiladas, y con leche desnatada al 3% que contenía inhibidores de la fosfatasa, para las formas fosforiladas (excepto para el anticuerpo pAKT, que se incubó con leche desnatada al 5%). La leche desnatada se diluyó a las concentraciones indicadas con solución salina tamponada con Tris (TBS-T: Tris-HCl 50 mM, pH 7.6, NaCl 150 mM y Tween-20 al 0,05%) y se dejó una hora a temperatura ambiente en agitación.

Las membranas se incubaron durante la noche a 4°C y en agitación con los anticuerpos primarios diluidos en las soluciones de bloqueo correspondientes. Las fuentes y diluciones de los anticuerpos primarios utilizados fueron:

Formas no fosforiladas:

- **mTOR**: anti-mTOR de ratón (Cell Signaling, Danvers, MA, EE.UU., CS4517) a una concentración 1:250.
- **Akt**: anti-Akt de ratón (Santa Cruz Biotechnology, Paso Robles, CA, EE.UU., SC5298) a una concentración 1:1000.
- **ERK**: anti-ERK de conejo (Abcam, UK, ab184699) a una concentración 1:1000.
- **PSD-95**: anti-PSD-95 de ratón (Cell Signaling, Danvers, MA, EE.UU., SC32390) a una concentración 1:1000.

Formas fosforiladas:

- **pmTOR**: anti-pmTOR de conejo (1:1000, Cell Signaling, Danvers, MA, EE.UU., CS2971) a una concentración 1:1000.
- **pAkt**: anti-pAkt de conejo (Cell Signaling, Danvers, MA, USA, CS9271) a una concentración 1:500.
- **pERK**: anti-pERK de ratón (1:200, Sigma Aldrich, EE.UU., M8159) a una concentración 1:200.

Tubulina:

- **Tubulina**: anti-Tubulina de conejo (Sigma Aldrich, EE.UU.) a una concentración 1:20000.

Al día siguiente se lavaron las membranas con TBS-T que contenía Tween 20 al 0,05%, y se incubaron durante una hora con los anticuerpos secundarios contra IgG de ratón o conejo (LICOR Biosciences, Lincoln, NE, EE. UU) para la detección luminiscente, a una concentración

de 1:10000. La señal luminiscente se detectó con un Odyssey CLx Imaging System (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, EE.UU.). La cuantificación del blot se realizó utilizando el software Image Studio Lite (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, EE.UU.), y los valores de densitometría se normalizaron con respecto a los valores obtenidos con el anticuerpo anti- β -tubulina.

Análisis estadísticos

Dependiendo del experimento y del número de factores a comprobar se llevaron a cabo unos métodos estadísticos u otros, sin embargo, en todos los casos se optó por pruebas paramétricas debido a una razón: una mayor la potencia estadística en las pruebas paramétricas en comparación con las no paramétricas (Rasmussen, 1986; J. Cohen, 1998; Mumby, 2002; Chin & Lee, 2008; Tanizaki, 2010). En todas las variables electrofisiológicas de los experimentos III y V se utilizó la media del porcentaje de cambio respecto a la condición basal como variable dependiente. Todas las pruebas estadísticas se realizaron en el programa RStudio (v. 2022.12.0 + 353)

Las pruebas paramétricas necesitan de la confirmación de dos supuestos: la normalidad, la cual se comprobó a través de la prueba de *Shapiro-Wilk* ($p > 0.05$ confirman la normalidad de los datos); y la homogeneidad de varianzas, que se comprobó a través de la prueba de *Levene* ($p > 0.05$ confirman el principio de homocedasticidad).

Sin embargo, antes de comprobar los supuestos se analizó la presencia de *outliers* en los diferentes grupos debido a que estas puntuaciones extremas pueden provocar que no se cumpla el supuesto de normalidad de los datos (J. Cohen, 1998). Con el fin de detectarlos y eliminarlos de las pruebas estadísticas se utilizó el test de Grubbs (función `grubbs.test` del paquete `Outliers` v0.15; Komsta, 2022). Este test identifica las puntuaciones críticas de la distribución (x_q) y calcula para cada una de ellas el valor G crítico (G_{exp}) a través de la siguiente fórmula:

$$G_{exp} = \frac{|x_q - \bar{x}|}{s}$$

donde \bar{x} representa la media de la distribución y s la desviación típica. Una vez obtenido el valor crítico, a través del contraste de hipótesis (si $p < 0.05$ la puntuación es un *outlier*) se determina si la puntuación se trata de un *outlier*.

Volviendo a los supuestos de homogeneidad y normalidad, en el caso de que alguna de las variables no cumpliera alguno de estos dos supuestos los datos eran transformados en función de dos características:

- Si las variables contenían valores menores (negativos) o iguales 0 se transformaban los datos aplicando la raíz cuadrada más una constante que elevase los valores negativos o nulos por encima de del valor 1 (Osborne, 2002; Pérez-Pelea, 2018; Osborne, 2019). En estos casos, la constante utilizada era el valor más bajo de la variable + 1.
- En el caso de que las variables contasen con valores mayores que 0 se utilizaban las transformaciones Box-Cox (Box & Cox, 1964; Sakia, 1992; Osborne, 2019). Las transformaciones que se realizarán dependerán del parámetro λ obtenido a través del modelo de regresión lineal simple (explicado en el apartado **balance excitación/inhibición**) a través de la siguiente fórmula:

$$y_i^{(\lambda_0)} = \beta_0 + \sum_{j=1}^q \beta_j x_{ji}^{(\lambda_j)} + \varepsilon_i$$

Donde $y_i^{\lambda_0}$ y $x_{ji}^{\lambda_j}$ representan la variable respuesta y a los coeficientes de los regresores ya transformados respectivamente y ε_i los errores aleatorios del modelo. En un inicio, los autores propusieron simplemente dos tipos de transformaciones dependiendo de si el valor del parámetro λ era igual o diferente a:

$$y_i^{(\lambda)} = \begin{cases} \frac{y_i^{\lambda}-1}{\lambda} & \text{si } \lambda \neq 0 \\ \log(y_i) & \text{si } \lambda = 0 \end{cases}$$

Sin embargo, con el tiempo se han añadido más transformaciones en función del valor del parámetro λ como, por ejemplo: si $\lambda = -2$, la transformación sería $1/x^2$; si $\lambda = -1$ la transformación sería $1/x$; si $\lambda = -0.5$, la transformación sería $1/\sqrt{x}$; si $\lambda = 0$, la transformación sería $\log(x)$; si $\lambda = 0.5$, la transformación sería \sqrt{x} ; si $\lambda = 1$, no se realizaría ninguna transformación; y si $\lambda = 2$, la transformación sería x^2 (Box & Cox, 1964; Sakia, 1992; Osborne, 2019). Para obtener el parámetro λ y saber que transformación usar se utilizó la función **boxcox** incluida en paquete MASS (v. 7.3-58.2. Venables & Ripley, 2002) de Rstudio.

Una vez transformados los datos, las pruebas estadísticas escogidas dependieron de número de grupos y la relación existente entre ellos:

- Cuando se compararon dos grupos independientes se utilizó una prueba *t* de *student* (función **t.test** del paquete stats v. 3.62, R Core Team, 2013).
- En el caso de comparar 3 o más grupos independientes se realizó ANOVA (función **aov** del paquete stats v. 3.62, R Core Team, 2013) de una o 2 vías dependiendo del número de factores a comparar. Cuando se compararon 3 o más grupos relacionados se recurrió a un ANOVA mixto (función **anova_test** del paquete rstatix: v. 0.7.1, Kassambara, 2023) con 1 factor intra-sujetos y 1 o 2 factores entre-sujetos. En este caso, los datos deben de cumplir otro supuesto, el de esfericidad. Este supuesto se comprueba a mediante la prueba de esfericidad de *Mauchly* ($p > 0.05$ si los datos son esféricos). Si esta no se cumplía, los grados de libertad de los factores e interacciones, junto al valor *F* crítico, eran corregidos a través de la corrección de *Greenhouse-Geisser*.
- Por último, en uno de los casos fue imposible realizar la transformación de los datos debido a que estaban formados por un vector compuesto en su totalidad por valores 0. En este caso se utilizó un ANOVA con permutaciones (20000 permutaciones en este caso; función **aovperm** del paquete permuco v.1.1.2, Frossard & Renaud, 2021), el cual permite realizar el análisis estadístico aún violando todos los supuestos (Kherad-Pajouh & Renaud, 2014).

Dependiendo del experimento como prueba *post hoc* en los ANOVAS se utilizó el Test de *Tukey* (Midway et al., 2020. función **tukey_hds** del paquete rstatix v. 0.7.1, Kassambara, 2022) para comparar 2 a 2 todos los grupos, o el test de Dunnett (función **DunnettTest** del paquete DescTools v. 0.99.47, Andri, 2022), si se querían realizar las comparaciones contra un único grupo. En todas las pruebas estadísticas se consideraron significativos *p* valores menores a 0.05 (representados con los símbolos *, § y ¶) y tendencia aquellos menores o iguales a 0.06

(representada con el símbolo #). Además, se representaron a través de ** y ***, aquellos p valores menores a 0.01 y 0.001, sucesivamente.

Es importante añadir también que en el experimento V se utilizaron dos grupos como “controles históricos”. Concretamente se utilizaron como controles históricos aquellos grupos que habían servido para comprobar la validez del modelo para generar depresión en el experimento IV, es decir aquellos que solamente había recibido el vehículo y el tratamiento con corticosterona sin haber sido registrado electrofisiológicamente. La introducción de controles históricos dentro del modelo tiene dos ventajas principales: la reducción del número de animales utilizados en el experimento y el aumento de la potencia estadística del modelo (Kramer & Font, 2017; Bonapersona et al., 2021).

Por último, todas las gráficas donde están representados los resultados se llevaron a cabo con el paquete GGplot2 (v. 3.4.0; Wickham, 2016) y maquetadas con Adobe Illustrator CC 2018 (v. 22.0.0; Adobe Inc.). Para los gráficos de líneas o barras, el punto (en los gráficos de línea) o la altura de la barra (en los gráficos de barras) representan la media de los datos y las barras \pm el error típico de media o error estándar (SEM). En los gráficos de caja y bigotes o *BoxPlot*, los valores extremos de los bigotes representan el valor máximo y mínimo de la distribución; la caja superior el 3^{er} cuartil y la inferior el 1^{er}; y la línea media entre ambas cajas representa la mediana. El último gráfico utilizado para representar los resultados fueron los gráficos de violín. Estos son similares a los *BoxPlot*, sin embargo, en ellos la anchura del gráfico representa la frecuencia de los datos y la línea de color rojo, la media.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio sobre los efectos conductuales, moleculares y electrofisiológicos de la ketamina

Resultados

Experimento I: Estudio del potencial efecto antidepresivo y psicomimético de una dosis baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) de ketamina y su evolución temporal, en machos y hembras de ratón

El objetivo fundamental de este experimento es estudiar potencial antidepresivo y las conductas psicomiméticas inducidas por una dosis baja y una alta de ketamina a lo largo del tiempo, y comprobar si existen diferencias relevantes en la relación efectos deseados/indeseados en cada dosis estudiada; además pretendemos estudiar todos estos aspectos tanto en machos como en hembras. En conjunto, este experimento se diseñó para responder a los **objetivos 1, 2, 3 y 4**. Para ello, se constituyeron 3 grupos experimentales de machos y 3 de hembras, en cada caso uno control (administración de salino), uno al que se le administró ketamina a 5 mg/kg y otro ketamina a 30 mg/kg. A todos los animales se les realizó dos NORT, y se les evaluó la expresión de un conjunto de variables relacionadas con el estado psicótico, de manera inmediata a la administración de la sustancia y otro a las dos horas, para evaluar la manifestación y persistencia de esta sintomatología psicótica.

Además, se llevaron test para evaluar potencial antidepresivo de la ketamina a diferentes tiempos: un TST a las dos horas de la administración, y un FST a las 24 horas y otro a los 7 días y comprobar, así la durabilidad de este efecto.

La ketamina produce un efecto psicótico inmediato que ya no es observable a las dos horas tras su administración. Este efecto es de mayor magnitud a mayor dosis y superior en machos que en hembras

- **Tras su administración, la ketamina provoca un descenso de la exploración y de la discriminación, dependiente de la dosis administrada. Estos efectos reflejan su potencial psicótico**

Para comprobar los efectos de la ketamina en primer lugar se llevó a cabo el test NORT. Tras aplicar los criterios de exclusión descritos en el apartado correspondiente de metodología la n resultante fue de 21 machos y 18 hembras (grupo control, machos: $n = 9$; hembras: $n = 6$; 5 mg/kg, machos: $n = 6$; hembras: $n = 6$; 30 mg/kg, machos: $n = 6$; hembras: $n = 6$).

El ANOVA de dos vías (factores *sexo* y *dosis*) y su interacción (*sexo*dosis*) realizado antes de la administración de sustancias -fase de entrenamiento, ambos objetos iguales- reveló que no había diferencias entre *dosis* ($F_{2,33} = 1.39$; $p > 0.05$) ni entre *sexos* ($F_{1,33} = 0.79$; $p > 0.05$) en la exploración. La interacción entre ambos factores tampoco fue significativa ($F_{2,33} = 0.47$; $p > 0.05$. **Figura E-I.1a1**), lo que confirma, que todos los grupos exploraron de la misma manera.

Sin embargo, el análisis realizado sobre la fase de test (tras la administración de la dosis correspondiente a cada grupo y habiendo reemplazado uno de los objetos por otro diferente), mostró

que la exploración sí fue diferente dependiendo del compuesto (y dosis) administrado (*dosis*: $F_{2,33} = 21.25$; $p < 0.001$), a pesar de que el efecto fue igual entre machos y hembras (*sexo*: $F_{1,33} = 0.08$; $p > 0.05$). La interacción entre los factores principales tampoco fue significativa (*sexo*dosis*: $F_{2,33} = 0.86$; $p > 0.05$).

En concreto, todos los animales, machos y hembras, que habían recibido una dosis de 30 mg/kg de ketamina exploraron menos que el grupo control ($p < 0.001$) y que el grupo al que se le había administrado 5 mg/kg ($p < 0.001$). El grupo con la dosis baja de ketamina mostró una exploración total similar a la del grupo control ($p > 0.05$). En la **Figura E-I.1b1** se representan los valores de todos los grupos, aunque la estadística se realizara agrupando por el factor sexo.

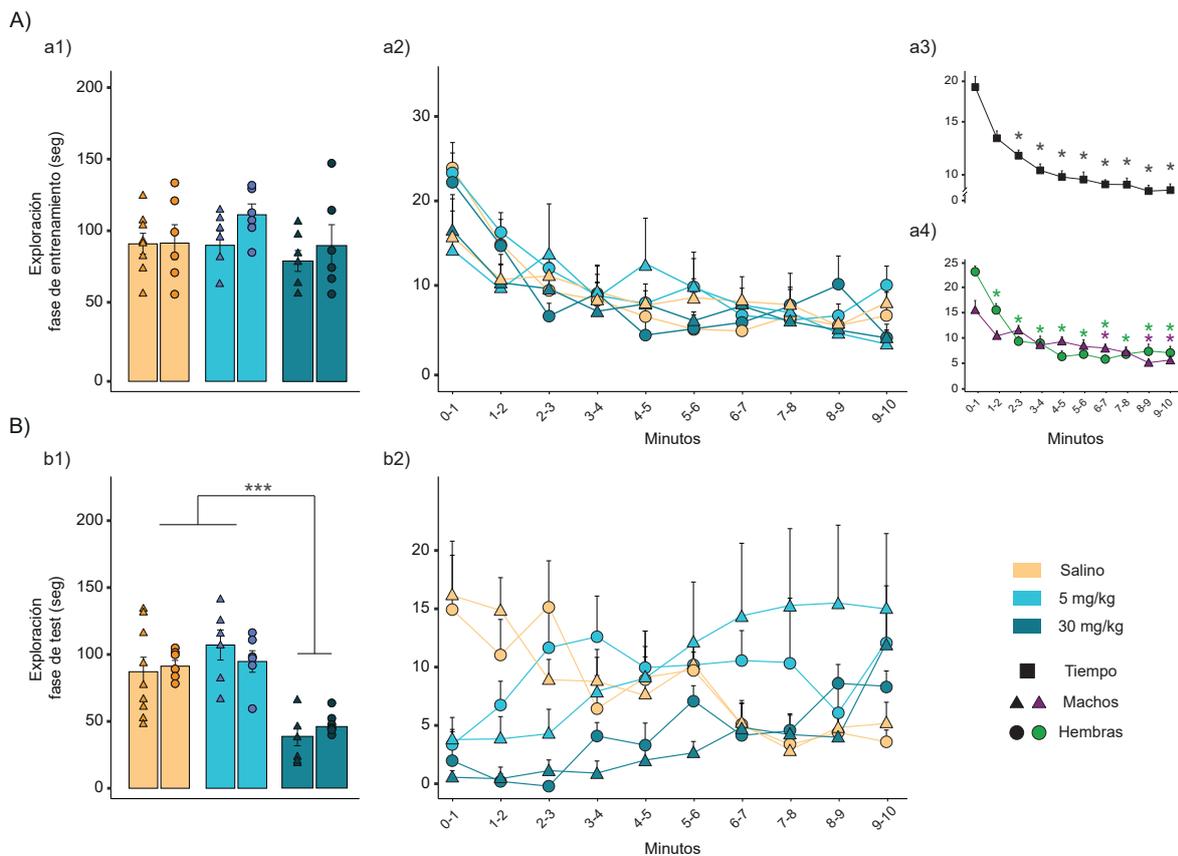


Fig. E-I.1: Exploración durante la fase de entrenamiento y test del NORT inmediato A) Exploración de los grupos durante la fase de entrenamiento. **a1)** Exploración total de los 3 grupos durante la fase de entrenamiento. Durante esta fase los grupos exploraron de manera similar. **a2)** Evolución temporal de la exploración durante la fase de entrenamiento. La evolución temporal de la exploración refleja un proceso de habituación por parte de todos los grupos; valores más altos de durante los minutos iniciales que rápidamente disminuyen. Esta habituación se puede observar cuando se promedia el factor tiempo (**a3**), ya que a partir del segundo minuto los valores de exploración son significativamente menores al inicial. También se encontraron diferencias en la interacción *sexo*tiempo* (**a4**); siendo el descenso de la exploración más rápido en machos que en hembras. Los asteriscos de las gráficas indican una diferencia significativa del intervalo de tiempo sobre el que están situados respecto al valor inicial y su color, la variable a la que corresponde la comparación. B) Exploración de los grupos durante la fase de test. **b1)** Tras la administración de ketamina o salino se muestra una reducción significativa de la exploración total en aquellos animales que habían recibido 30 mg/kg de ketamina. **b2)** Durante esta fase la evolución temporal de la exploración fue diferente según el compuesto administrado y las comparaciones estadísticas pueden consultarse en la **Figura E-I.2**. Las diferentes formas de las gráficas de líneas representan la media y las barras el \pm SEM. En los gráficos de barras, se representa la media y la \pm SEM. Test de *Tukey*. *, $p < 0.05$, ***, $p < 0.001$.

Para profundizar en estos resultados, se consideró interesante estudiar la evolución temporal de la exploración, por lo que se representaron y compararon los valores de esta variable en cada minuto del test. Para ello, se realizó un ANOVA mixto con un factor intra-sujeto (el *tiempo*, minuto a minuto) y dos entre-sujeto (*dosis* y *sexo*).

Como cabría esperar, durante la fase de entrenamiento, la triple interacción entre los factores no fue significativa (*dosis*sexo*tiempo*: $F_{11,67,180.89} = 0.85$; $p > 0.05$; en la **Figura ??a2** se observa cómo la evolución temporal de todos los grupos es similar). Tampoco lo fueron el factor *dosis*, ni el factor *sexo*, ni la interacción entre ambos, resultados que confirman una exploración similar entre machos y hembras. Los valores estadísticos de estos factores pueden consultarse en la (**Tabla E-I.2**). Sin embargo, sí que fueron significativos el factor principal tiempo ($F_{5,84,180.89} = 16.57$; $p < 0.001$) y su interacción con el sexo (*tiempo*sexo*: $F_{5,84,180.89} = 3.71$; $p < 0.001$). El primer resultado refleja un cambio de la exploración a lo largo de los 10 primeros minutos en todos los animales, que consiste en un pico de exploración durante el primer minuto, que desciende rápidamente (0-1 min *vs* 2-3 min: $p < 0.01$), y se mantiene por debajo del minuto inicial el resto del tiempo ($p < 0.001$, **Figura E-I.1a3**). Estos resultados muestran una disminución de la exploración que podría estar reflejando una habituación por parte de los animales.

La significación de la interacción *sexo*tiempo* indica que esta habituación sería diferente entre sexos (**Figura E-I.1a4**). En concreto, la habituación es más rápida en hembras que en machos como muestra el hecho de que el descenso de la exploración en ellas es más temprano, ya el minuto 1-2 es significativamente menor que el 0-1 ($p < 0.01$) y a partir de ahí también lo son el resto (0-1 min *vs* el resto de los minutos del test: $p < 0.001$). En cambio, en machos, los valores de exploración a lo largo del tiempo se mantuvieron iguales al primero hasta los minutos 6-7, 8-9 y 9-10 ($p < 0.001$) donde se confirmó el descenso. Sin embargo, al comparar directamente entre grupo machos y grupo hembras, no hubo diferencias en el tiempo de exploración en ninguno de los minutos ($p > 0.05$).

Por otro lado, la exploración minuto a minuto se vio afectada tras la administración de ketamina (en la **Figura E-I.1b2** se representa la evolución temporal de todos los grupos). A diferencia de lo ocurrido en el test anterior, el ANOVA mixto alcanzó la significación estadística en la triple interacción (*dosis*sexo*tiempo*: $F_{9,73,150.84} = 2.34$; $p < 0.05$) demostrando que los tratamientos afectan, que lo hacen de manera diferentes entre sexos y que estos efectos no son constantes a lo largo del tiempo. Los efectos principales tiempo, dosis y la interacción entre ambos también fueron significativos y los resultados pueden consultarse en la **Tabla E-I.2**, junto al resto de factores e interacciones.

En primer lugar, la exploración de ambos grupos control mostró un descenso a lo largo del tiempo, desde valores altos al inicio, a valores bajos al final del test, es decir, una habituación en ambos sexos, similar a la observada en la fase de entrenamiento. En este caso, en los machos se observa una disminución de la exploración estadísticamente significativa a partir del minuto 6-7 ($p < 0.05$) cuando es comparado con su minuto inicial (**Figura E-I.2A** izquierda, cuadrados verdes). En hembras, aunque el perfil temporal de la exploración también mostró un descenso, ninguno de los valores posteriores al primer minuto fue diferente de éste ($p > 0.05$, **Figura E-I.2A** izquierda, cuadros verdes). En cualquier caso, no hubo diferencias en la exploración minuto a minuto entre los machos y las hembras del grupo salino ($p > 0.05$, **Figura E-I.2B** cuadros marrones).

Por otra parte, la administración de ketamina provocó una disminución de la exploración en ambas dosis, pero parece que de manera diferente.

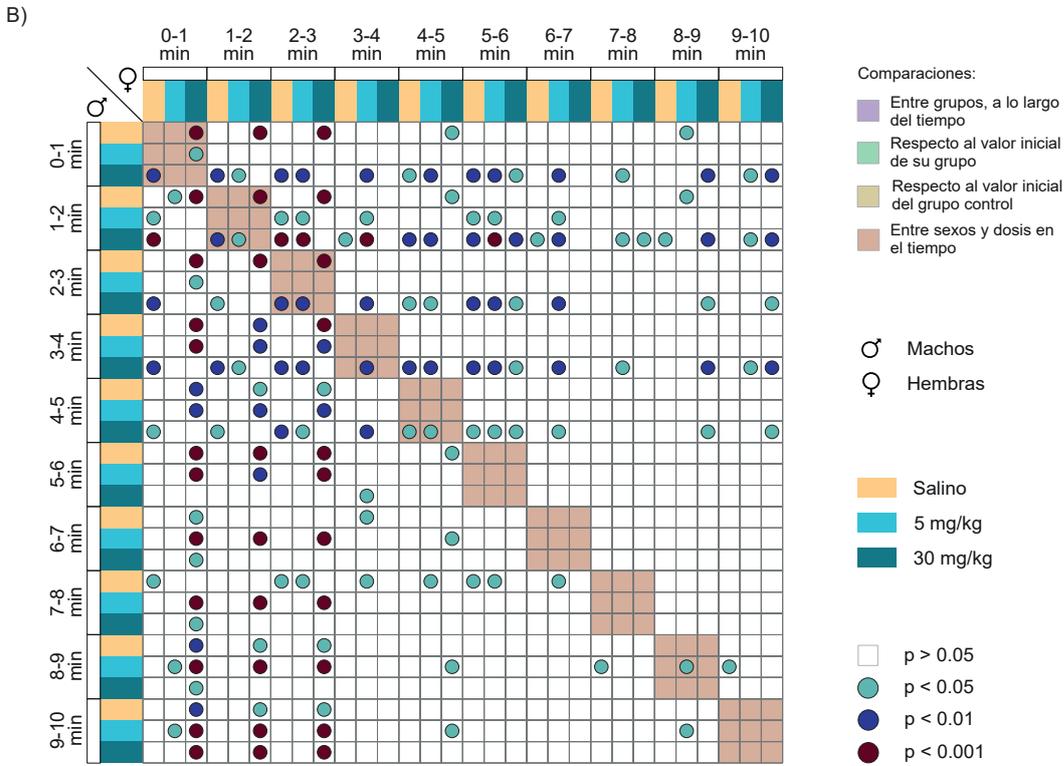
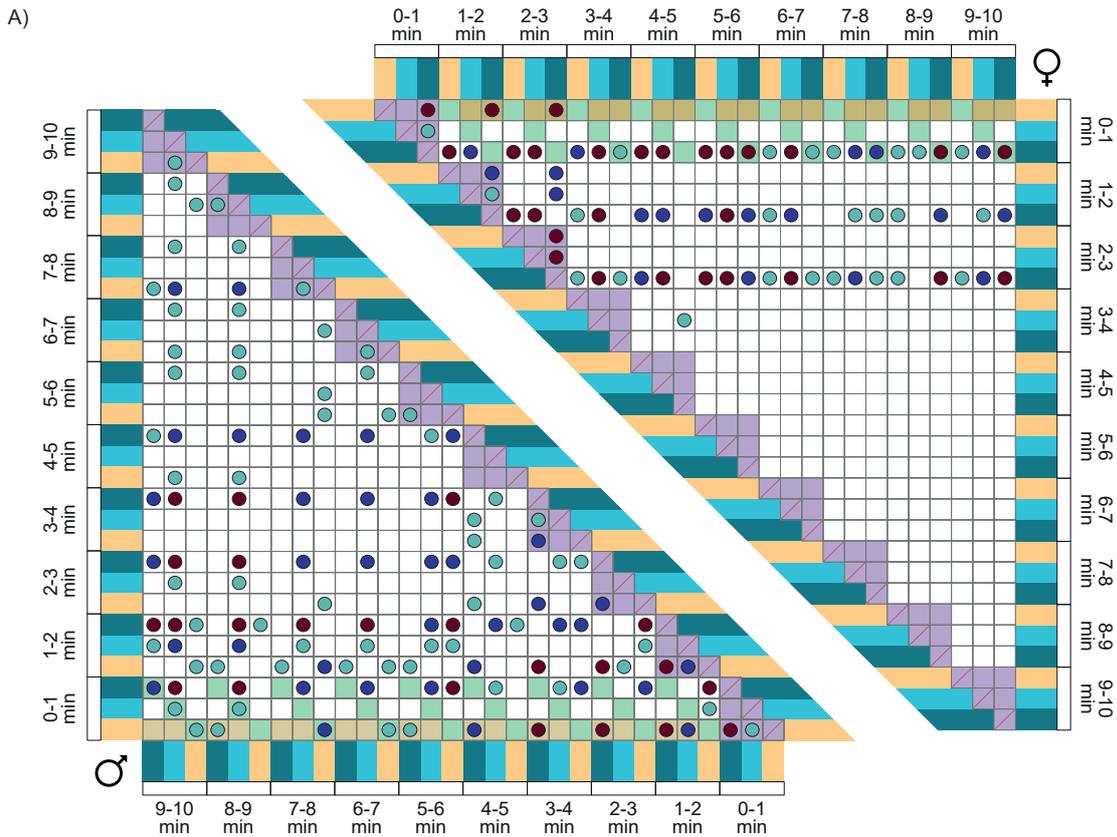


Fig. E-I.2: Comparaciones múltiples de la triple interacción (*dosis*sexo*tiempo*) de la evolución temporal de la exploración. (Continúa en la página siguiente)

Fig. E-I.2: (Continuación). **A)** Comparaciones de múltiples a lo largo del tiempo entre dosis para machos (figura de la izquierda) y hembras (figura de la derecha). **B)** Comparaciones de múltiples a lo largo del tiempo entre dosis y sexos. En ambas figuras los rectángulos de colores situados en los extremos de las figuras representan a cada uno de los grupos (amarillo = grupo salino; azul = 5 mg/kg; y verde oscuro = 30 mg/kg); el color de relleno de los cuadrados las comparaciones que se realizan (morado = comparaciones entre grupos a lo largo del tiempo; verde claro = comparación de cada grupo respecto a su valor inicial; marrón claro = comparación de ambas dosis respecto al valor inicial del grupo control; y rojo claro = comparaciones entre grupos y sexos a lo largo del tiempo); y los círculos situados dentro de los cuadrados la significación estadística entre las comparaciones realizadas mediante el Test de *Tukey* (sin círculo = $p > 0.05$; círculo aguamarina = $p < 0.05$; círculo azul oscuro = $p < 0.01$; y círculo marrón oscuro = $p < 0.001$).

Respecto al efecto de la dosis de 5 mg/kg, en hembras, y tal y como se observa en la figura 2b2, parecería que la exploración estuviese disminuida durante los minutos iniciales, sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre la exploración minuto a minuto de este grupo en comparación con la exploración del mismo minuto del grupo control ($p < 0.05$. **Figura E-I.2A** derecha, cuadros morados). Teniendo en cuenta el perfil de habituación que manifiestan los grupos control nos parece interesante comparar los valores de cada minuto de los grupos experimentales no solo con los del grupo control en ese mismo minuto, sino también con el primero, entendiéndolo como un nivel “basal”. Esta comparación tampoco es diferente ($p > 0.05$), ni tampoco los valores de exploración a lo largo de los minutos de este grupo de hembras 5 mg/kg son menores a los valores de su propio minuto inicial ($p > 0.05$. **Figura E-I.2A** derecha, cuadros verdes).

En machos, sí se confirma disminución inicial; la exploración durante los 2 primeros minutos es menor respecto a la del mismo minuto de su grupo control (minuto 1-2, $p < 0.01$. **Figura E-I.2A** izquierda, cuadros morados) y los valores de exploración dentro del grupo continuarán siendo similares a los de su minuto inicial hasta los 8-9 min ($p < 0.05$. **Figura E-I.2A** izquierda, cuadros morados). A los 2-3 minutos, los valores de exploración del grupo se igualan a los del valor inicial de su grupo salino ($p > 0.05$. **Figura E-I.2B**, cuadros marrones). Al comparar entre sexos, se observa cómo la exploración es igual durante todo el test salvo, en el minuto 8-9 donde momentáneamente se separan ($p < 0.05$) siendo la de los machos mayor que la de las hembras. Al observar los perfiles de cada grupo, se observa que en los minutos finales del test, las hembras exploran menos porque se han habituado, mientras que en los que los machos hay valores más elevados, porque se podrían estar recuperando de una afectación inicial.

En lo que se refiere a la dosis de 30 mg/kg, tanto en machos como en hembras, la exploración es menor a la del mismo minuto del control ($p < 0.001$) durante los primeros minutos del test, igualándose a tiempos parecidos: hembras hasta el minuto 3-4 ($p > 0.05$. **Figura E-I.2A** derecha, cuadros morados) y machos minuto 4-5 ($p > 0.05$. **Figura E-I.2A** izquierda, cuadros morados). Hay que tener en cuenta que esta recuperación es relativa o “aparente” podría estar influida por la dinámica de descenso del grupo control, por eso es interesante tener en cuenta que la exploración en machos se hace igual que el minuto 1 de su control en el minuto 6-7, y las hembras en el 3-4 ($p < 0.05$. **Figura E-I.2A**, cuadros marrones). Dentro de cada grupo, los niveles de exploración en hembras se van recuperando hasta valores estadísticamente superiores a su nivel inicial en los minutos 3-4 ($p < 0.05$. **Figura E-I.2A** derecha, cuadros verdes). Sin embargo, en los machos, la exploración no alcanzó niveles superiores a su minuto inicial hasta el último minuto del test (minuto 9-10; $p < 0.01$. **Figura E-I.2A** izquierda, cuadros verdes). Estas diferencias podrían estar revelando que, los machos fueran más sensibles que las hembras al tratamiento con ketamina, aunque estadísticamente no hay diferencias en los niveles de exploración minuto a minuto entre sexos ($p > 0.05$. **Figura E-I.2B**, cuadros marrones).

Estos resultados parecen indicar que los machos se ven más afectados. En este sentido, es interesante destacar que la exploración de las hembras que han recibido 30 mg/kg es igual a la de los machos que han recibido 5 mg/kg, salvo por el minuto inicial, donde la exploración de las hembras es significativamente menor a la de los machos ($p < 0.05$. **Figura E-I.2B**, cuadrados marrones). Y, además, los valores de exploración cuando se compararon los machos que habían recibido 30 mg/kg con las hembras administradas con 5 mg/kg fueron menores desde el minuto 1 hasta el 5 ($p < 0.05$. **Figura E-I.2B**, cuadrados marrones).

Como se ha descrito en la metodología, además de estudiar la exploración en sí, sobre el NORT se evaluaron otras variables que revelan afectaciones de tipo más cognitivo a partir de los tiempos de exploración de ambos objetos durante la fase de test. Estas son: discriminación absoluta (D1), índice de discriminación (D2) e índice de preferencia (D3. **Figura E-I.3**). Para todos estos parámetros se observaron efectos del el factor *dosis* (D1: $F_{2,32} = 19.68$, $p < 0.001$; D2: $F_{2,32} = 25.39$, $p < 0.001$; D3: $F_{2,32} = 25.39$, $p < 0.001$), pero no del factor *sexo* (D1: $F_{1,32} = 0.006$, $p > 0.05$; D2: $F_{1,32} = 0.001$, $p > 0.05$; D3: $F_{1,32} = 0.001$, $p > 0.05$), ni de la interacción entre ambos (*dosis***sexo*. D1: $F_{2,32} = 0.38$, $p > 0.05$; D2: $F_{2,32} = 0.75$, $p > 0.05$; D3: $F_{2,32} = 0.75$, $p > 0.05$). Lo que indica que la administración de ketamina produjo cambios en este parámetro, pero de forma similar entre sexos.

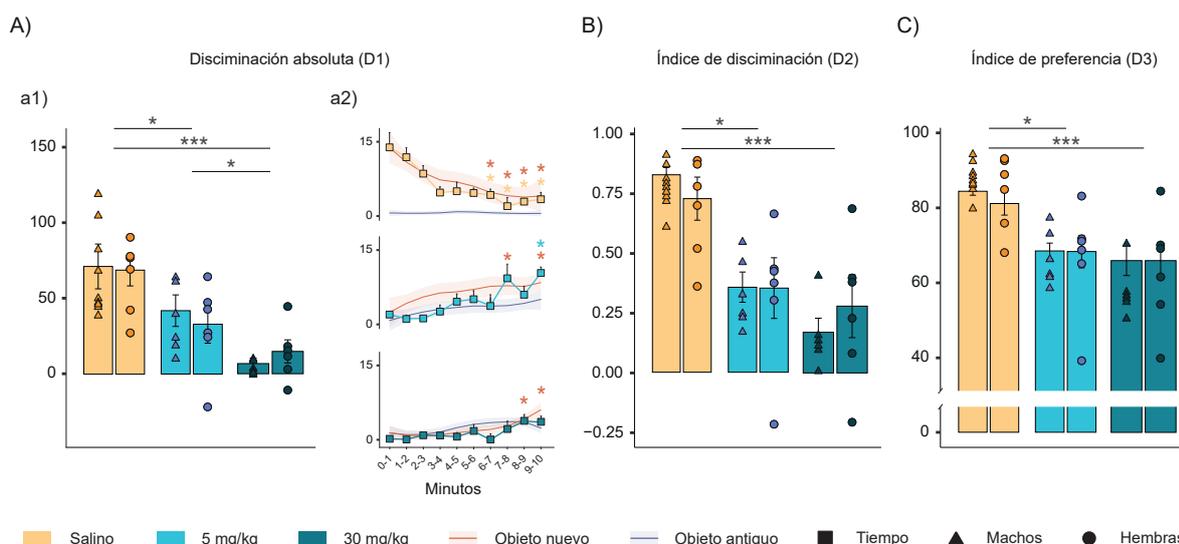


Fig. E-I.3: Discriminación total de ambos objetos y su evolución a lo largo del NORT inmediato. **A)** La discriminación absoluta total (**a1**) entre grupos muestra una afectación de en aquellos grupos que habían recibido ketamina cuando son comparados con el grupo control, e incluso, entre ambos grupos. Las evoluciones temporales de **a2** representan, la evolución temporal de la discriminación de cada una de las dosis (líneas con cuadrados) y de ambos objetos (líneas con sombras, donde la sombra representa el \pm SEM), promediando el sexo. Los asteriscos representan la significación estadística de ese minuto cuando es comparado con el minuto inicial, y su color, la variable a la que corresponde la comparación. **B** y **C)** Los índices de discriminación (**B**) y preferencia (**C**) también encontraron afectados en aquellos grupos que habían recibido ketamina cuando eran comparados con el grupo control. Las diferentes formas de las gráficos de líneas representan la media y las barras el \pm SEM. En los gráficos de barras, se representa la media y la \pm SEM. Test de *Tukey*. *, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$.

Al no ser significativa la interacción entre los factores *sexo***dosis*, para las pruebas *post hoc* se agruparon todas las puntuaciones de discriminación sin tener en cuenta el sexo. Estos análisis indicaron que ambas dosis de ketamina reducían D1 en comparación con el grupo control (5 mg/kg: $p < 0.05$; 30 mg/kg: $p < 0.001$). También había diferencias entre las dos dosis, en el

sentido de que D1 es menor cuando se administra la dosis de 30 mg/kg que cuando se inyecta la de 5 mg/kg ($p < 0.05$. En la **Figura E-I.3a1** se observan los valores de todos los grupos, aunque la estadística se haya llevado a cabo agrupando por el factor sexo).

A continuación, para cada dosis, se analizó la evolución temporal de esta variable, a través de un ANOVA mixto con los factores tiempo y sexo, con el fin de comprobar la duración de la afectación sobre la discriminación que produce cada dosis y en cada sexo. En esa ocasión no se pudo añadir el factor dosis dentro del ANOVA, debido al incumplimiento supuesto de homocedasticidad, el cual no se cumplió ni con la transformación de los datos, por lo que cada dosis se analizó por separado.

Además, con el objetivo de poder interpretar mejor los resultados obtenidos, también se midió la evolución de la exploración del objeto nuevo y del antiguo. Los resultados se muestran en la **Figura E-I.3a2**.

Tanto en el grupo control como el de los animales que habían recibido de 5 mg/kg, el factor *tiempo* obtuvo significación estadística (salino: $F_{2,96,32.52} = 8.02$, $p < 0.001$; 5 mg/kg: $F_{9,63} = 3.91$, $p < 0.001$), pero no en el factor *sexo* (salino: $F_{1,11} = 0.056$, $p > 0.05$; 5 mg/kg: $F_{1,7} = 0.25$, $p > 0.05$), ni en la interacción entre ambos factores principales (*dosis*sexo*. (salino: $F_{2,96,32.52} = 1.63$, $p > 0.05$; 5 mg/kg: $F_{9,63} = 0.62$, $p > 0.05$). Indicando que cambios producidos por estos dos tratamientos a lo largo del tiempo, pero similares entre sexos.

En el grupo control, la discriminación fue cada vez menor, alcanzando este descenso la significación estadística a los 6-7 min, cuando era comparada con su minuto inicial ($p < 0.05$). Los resultados parecen indicar que los valores elevados iniciales de discriminación se deberían a una exploración elevada del objeto nuevo. En este análisis tiene efecto el factor tiempo ($F_{2,78,33.34} = 3.87$, $p < 0.05$) y la exploración del objeto nuevo disminuye en el minuto 6-7, cuando es comparada con su minuto inicial ($p < 0.05$), y coincidiendo con la disminución de D1. La exploración del objeto antiguo se mantuvo baja y sin cambios durante los 10 min (*tiempo*: $F_{9,117} = 1.84$, $p > 0.05$). Estos resultados confirmaron de nuevo una habituación a lo largo del test de los animales que habían recibido salino (**Figura E-I.3a2**). El factor principal sexo y la interacción *sexo*tiempo* tampoco alcanzó la significación (**Tabla E-I.1**). Lo que confirma que, el único factor responsable de los cambios observados es el compuesto administrado al animal.

En los animales que habían recibido 5 mg/kg, D1 comienza con valores muy bajos que van ascendiendo con el tiempo (*tiempo*: $F_{9,63} = 3.91$, $p < 0.001$) hasta ser significativamente mayores al inicio del test en el último minuto ($p < 0.05$). Cuando observamos la exploración de cada objeto, esta es baja al principio para ambos, pero va aumentando hasta alcanzar, al final del test, valores superiores a los iniciales. Sin embargo, este incremento a lo largo del tiempo solo fue significativo en el objeto nuevo (*tiempo*: $F_{3,28,32.79} = 3.41$, $p < 0.05$), alcanzando valores superiores a su valor inicial a partir del minuto 7-8 ($p < 0.05$), pero no en el antiguo (*tiempo*: $F_{2,72,27.19} = 2.23$, $p > 0.05$. Para el factor *sexo* y la interacción *sexo*tiempo* de ambos objetos ver **Tabla E-I.1**). Esto indica que, tras la administración de esta dosis, no es hasta los minutos finales del test cuando el animal reconocería que hay un objeto nuevo y puede discriminarlo del antiguo (**Figura E-I.3a2**).

Por último, para D1 los animales que habían recibido 30 mg/kg no alcanzó la significación estadística en ninguno de los factores (*sexo*: $F_{1,7} = 0.91$, $p > 0.05$; *tiempo*: $F_{9,63} = 1.45$, $p > 0.05$) ni en la interacción (*sexo*tiempo*: $F_{9,63} = 1.84$, $p > 0.05$) es decir, la discriminación no se recupera. Si, que alcanzaron una tendencia a la significación en el factor tiempo tanto para el objeto antiguo (*tiempo*: $F_{3,2,31.99} = 2.52$, $p = 0.06$) como para el nuevo (*tiempo*: $F_{9,90} = 6.47$, $p < 0.001$). Y, concretamente, en los 2 últimos minutos del test, la exploración del objeto

nuevo comenzó a incrementarse en comparación con su valor inicial (8-9 y 9-10; $p < 0.05$). Los efectos fueron los mismos para el factor principal sexo y la interacción sexo*tiempo no fue significativa para ninguno de los dos objetos (**Tabla E-I.1**). Estos resultados muestran que al administrar esta dosis, la exploración de ambos objetos está más afectada, y que los animales no reconocen el nuevo hasta el final, y no les da tiempo a expresar discriminación, por lo que el efecto de la ketamina se está prolongando como mínimo hasta el final del test. (**Figura E-I.3a2**).

Tabla E-I.1: Valores estadísticos de la evolución temporal de la discriminación absoluta, la exploración del objeto nuevo y del antiguo durante el primer NORT.

Factores	Discrim. absoluta			Objeto antiguo			Objeto nuevo		
	Salino	5 mg/kg	30 mg/kg	Salino	5 mg/kg	30 mg/kg	Salino	5 mg/kg	30 mg/kg
Sexo	$F_{1,10} = 0.05$	$F_{1,7} = 0.25$	$F_{1,7} = 0.91$	$F_{1,13} = 1.42$	$F_{1,10} = 0.25$	$F_{1,10} = 0.05$	$F_{1,12} = 0.76$	$F_{1,10} = 2.06$	$F_{1,10} = 1.16$
Tiempo	$F_{2,9,32.5} = 8.02$ ***	$F_{9,63} = 3.91$ ***	$F_{9,63} = 1.45$	$F_{1,117} = 1.85$	$F_{2,7,27.1} = 2.23$	$F_{3,2,31.9} = 2.52$	$F_{2,7,33.3} = 3.87$ *	$F_{3,2,32.7} = 3.41$ *	$F_{9,90} = 6.47$ ***
Sexo*Tiempo	$F_{2,9,32.5} = 1.63$	$F_{9,63} = 0.62$	$F_{9,63} = 1.84$	$F_{1,117} = 1.04$	$F_{2,7,27.1} = 1.14$	$F_{3,2,31.9} = 1.07$	$F_{2,7,33.3} = 0.98$	$F_{3,2,32.7} = 1.01$	$F_{9,90} = 1.46$

Nota: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Al igual que en D1, en las variables D2 y D3 también se produjo una disminución de discriminación respecto al grupo control de todos los animales que recibieron ketamina (5 mg/kg: $p < 0.05$; 30 mg/kg: $p < 0.01$), pero no hubo diferencias entre ambas dosis ($p > 0.05$). En las **Figura E-I.3B** y **C** se representan los valores de todos los grupos, aunque se haya agrupado por el factor sexo para hacer la estadística).

Estos resultados ponen de manifiesto que, al parecer, la detección de un objeto nuevo, así como la discriminación efectiva del ya conocido, estaría muy afectada en todos los animales, más por la dosis elevada.

- **La administración ketamina genera conductas de naturaleza psicomimética tales como estereotipias, ataxias y alteraciones de la locomoción, de mayor magnitud cuanto más elevada es la dosis; algunos de estos efectos ocurren de manera diferente entre sexos**

Como se ha indicado previamente, sobre las grabaciones realizadas en el NORT se analizaron también minuto a minuto otras conductas más relacionadas con el comportamiento psicótico como son las estereotipias, las ataxias y alteraciones de la locomoción.

En lo que se refiere a las estereotipias, durante los 10 minutos previos a la administración de sustancias (fase de entrenamiento del NORT), los animales no mostraron estas conductas, por lo que no se pudo realizar ningún análisis estadístico. En lo que se refiere a la locomoción y las ataxias, durante esta primera fase, la triple interacción de los factores principales no fue significativa para ninguna de las dos variables (*dosis*sexo*tiempo*. Locomoción: $F_{11,16,161.79} = 0.84$, $p > 0.05$; Ataxias: $F_{9,36,154.37} = 0.79$, $p > 0.05$. Se pueden observar las evoluciones

temporales de todos los grupos en las **Figura E-I.4a1 y b1**). Del resto de factores e interacciones (**Tabla E-I.2**) solamente alcanzó la significación estadística el factor *tiempo* en ambas medidas (Locomoción: $F_{5,58,161.79} = 7.87$, $p > 0.05$; Ataxias: $F_{4,68,154.37} = 7.54$, $p < 0.01$) y el *sexo* en las ataxias ($F_{1,33} = 11.96$, $p < 0.01$) por lo que para realizar las comparaciones *posthoc*, se agruparon los datos según estos factores. Este análisis reflejó que en ambos casos ambas variables cambian a lo largo los 10 minutos y que hay diferencias entre sexos en los comportamientos atáxicos, pero no en la locomoción. Además, en esta ocasión, como era de esperar, la dosis no tenía ningún efecto en los animales.

En concreto, tanto en la locomoción como en las ataxias (valores estudiados agrupando por sexo y dosis), se registró un descenso a lo largo del tiempo en comparación a sus valor iniciales. Respecto de las ataxias (**Figura E-I.4b2**) los valores siempre se mantuvieron por debajo de los valores patológicos y el descenso se produjo de manera muy rápida, en el minuto 1-2, ($p < 0.05$). La disminución de la locomoción fue algo más tardía, a los 4-5 minutos ($p < 0.05$. **Figura E-I.4b1**). Estos resultados van acordes a los encontrados anteriormente y reflejan un proceso de habituación que conlleva menor locomoción, es decir, mayor reposo, valor 0-1 en ataxias. En cuanto a las diferencias encontradas según el sexo en las ataxias, los resultados mostraron que las hembras manifiestan comportamientos activos en mayor medida que los machos (**Figura E-I.4b1** esquina superior derecha) lo que, de nuevo, concordaría con los resultados obtenidos en la exploración.

Durante la fase de test, es decir, durante los 10 minutos posteriores a la administración de sustancias, en lo que a la locomoción se refiere, la triple interacción no fue significativa (*dosis*tiempo*sexo*: $F_{7,19,107.84} = 1.28$, $p > 0.05$. **Figura E-I.4c1**), pero si la interacción de los factores principales *dosis*tiempo* ($F_{7,19,107.84} = 3.75$, $p < 0.01$) y el factor principal tiempo ($F_{3,59-107.84} = 3.75$, $p < 0.001$), demostrando en esta ocasión que los efectos de las dosis son diferentes a lo largo del tiempo, pero iguales entre sexos. El resto de los factores e interacciones no fueron significativos y pueden consultarse en la **Tabla E-I.2**.

En la **Figura E-I.4c2** (datos agrupados sin tener en cuenta el sexo) pueden observarse los perfiles obtenidos para cada compuesto y dosis y, concretamente, se pueden observar los siguientes cambios. En primer lugar, el grupo control presentó un perfil de habituación, al igual que en las otras variables estudiadas. Esta habituación se confirmó a partir del minuto 3-4 ya que, desde ese momento, y durante todo el registro, los valores de locomoción fueron menores a su valor inicial, de manera estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Los animales que habían recibido 5 mg/kg, mostraron puntuaciones similares a su valor inicial durante todo el test ($p > 0.05$) a pesar de que a partir del minuto 5-6 comenzaron a descender. Además, las puntuaciones de estos animales siempre fueron iguales a la inicial del grupo control ($p > 0.05$), es decir, la dosis baja no afectó significativamente a la locomoción.

El grupo que había recibido la dosis alta de ketamina mantuvo su locomoción baja durante casi el total de los 10 minutos ($p < 0.05$), de manera que sus puntuaciones se igualaron a las del control en el último minuto del test (9-10 min; $p > 0.05$). Sin embargo, aunque estos datos apunten a que la dosis elevada tiene un efecto mayor sobre la locomoción, no se refleja en diferencias a nivel estadístico entre grupos experimentales ($p > 0.05$).

En lo que a las estereotipias se refiere (**Figura E-I.4D**), se observó la manifestación de estas conductas solo en los animales que habían recibido ketamina. Debido al incumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas en estas variables, y a la imposibilidad de transformar los datos para realizar pruebas paramétricas (debido principalmente a que los animales control no mostraron estereotipias), se utilizó un test de ANOVA con per-

mutaciones. Este tipo de test permiten comprobar, a través de un número determinado de pruebas/permutaciones (20000 en este caso) la significación estadística de los factores y de sus interacciones.

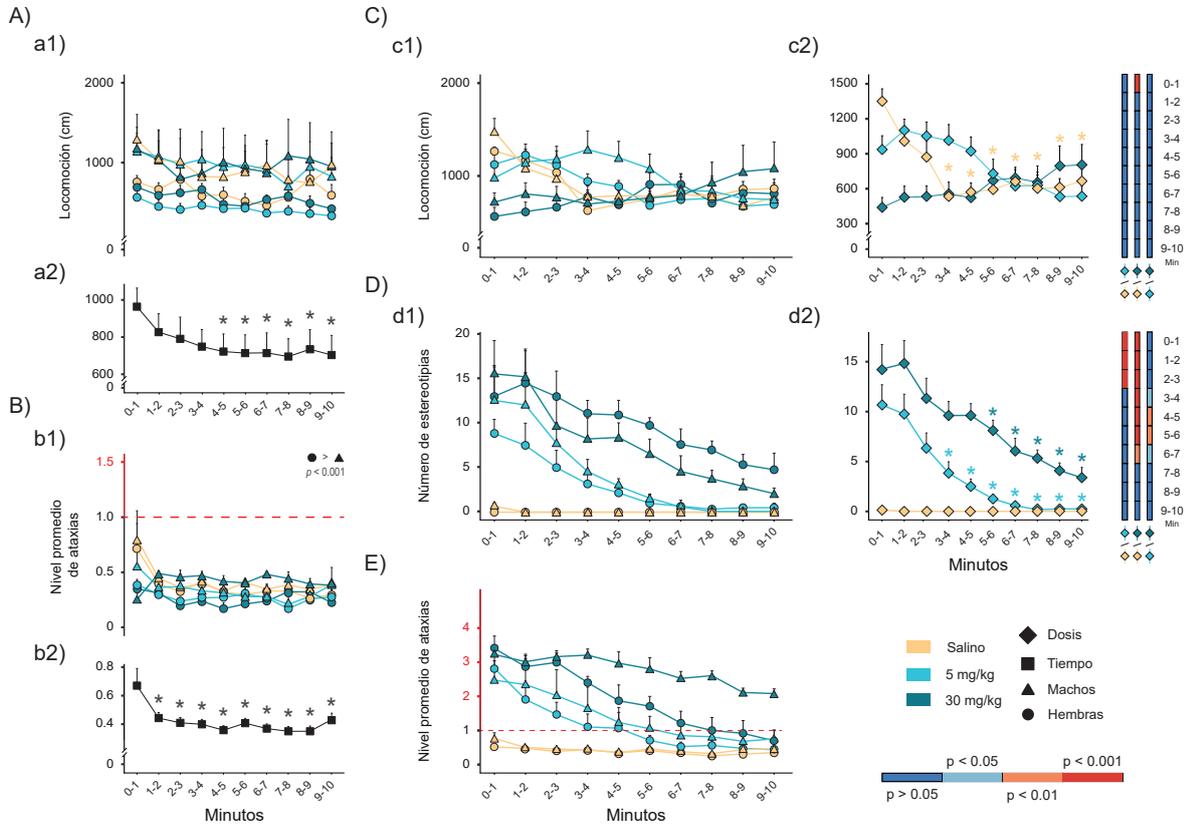


Fig. E-I.4: Evolución temporal de la locomoción, ataxias y estereotipias durante las fases de entrenamiento y test del primer NORT. A y B) Evolución temporal de la locomoción (A) y ataxias (B) durante la fase de entrenamiento. En ambos casos a1) (locomoción) y b1) (ataxias) se pueden observar puntuaciones similares para todos los grupos durante esta fase. En el caso de los comportamientos atáxicos, todos los grupos se encontraron por debajo del nivel patológico (línea discontinua de color rojo). En ambos parámetros se pudo observar la significación estadística del factor principal tiempo (cuadrados de color negro) y el factor principal sexo en las ataxias (representados en las gráficas a2) [locomoción] y b2) [ataxias]). En ambos casos, las variables fueron disminuyendo a lo largo del tiempo. Además, en las ataxias, las hembras mostraron puntuaciones mayores que los machos. Durante esta fase no se produjeron estereotipias. C, D y E) Evolución temporal de la locomoción (C), estereotipias (D) y ataxias (E) durante la fase de test. En todos los casos (locomoción, c1); estereotipias, d1); y ataxias, e1) se observan perfiles diferenciales según la dosis administrada. En el caso de la locomoción y las estereotipias la interacción *dosis*tiempo* resultó significativa y puede observarse la evolución temporal de esta interacción en las figuras c2) y d2) respectivamente. Las ataxias (E) alcanzaron la significación estadística en triple significación (*dosis*sexo*tiempo*) y las comparaciones estadísticas de esta triple interacción pueden comprobarse en la **Figura E-I.5**. Los asteriscos representan la comparación de ese minuto con su valor inicial. Las comparaciones por parejas entre dosis (figuras c2) y d2), en cada uno de los minutos, se encuentran representadas en los rectángulos laterales, donde cada color indica la significación estadística de la comparación (azul oscuro = $p > 0.05$; azul claro = $p < 0.05$; naranja = $p < 0.01$; rojo = $p < 0.001$). Las diferentes formas de las gráficas de líneas representan la media y las barras el + SEM. Test de *Tukey*. *, $p < 0.05$.

Los factores principales, *dosis* ($F_{2,327} = 181.89, p < 0.001$) y *tiempo* ($F_{9,327} = 20.01, p < 0.001$) y su interacción (*dosis*tiempo*: $F_{18,327} = 5.64, p < 0.001$), fueron significativos, lo que confirma que, el compuesto administrado y su dosis tiene un efecto diferente en los comportamientos estereotipados que va cambiando a lo largo de test. Sin embargo, ni factor sexo, el resto de

las interacciones, ni la triple interacción de los factores principales alcanzaron la significación estadística (Ver **Tabla E-I.2**; se pueden observar los perfiles temporales de todos los grupos en la **Figura E-I.4d1**). Por lo tanto, los efectos fueron los mismos en ambos sexos, por lo que, para las pruebas *post hoc*, se agruparon los datos sin tener en cuenta esta variable (**Figura E-I.4d2**).

En detalle, los animales que habían recibido salino no mostraron estereotipias, pero la administración de ambas dosis de ketamina se reflejó en la manifestación de estas conductas con un pico inicial, que fue descendiendo a lo largo del tiempo (**Figura E-I.4d2**). Concretamente, la dosis de 5 mg/kg generó estereotipias durante los primeros 3-4 min, si se comparan con su valor inicial ($p < 0.05$), y con los del control durante estos minutos ($p < 0.05$). En los animales que había recibido 30 mg/kg de ketamina, las estereotipias se mantuvieron hasta los 5-6 minutos cuando se comparaban con su valor inicial ($p < 0.05$) y hasta el minuto 7-8 al compararlo con el grupo control ($p > 0.05$).

Estos resultados nos muestran lo que parece ser un mayor efecto psicótico en los animales que habían recibido 30 mg/kg que en los que habían recibido 5 mg/kg. Esto se confirma cuando se comparan ambos grupos. Durante los minutos iniciales en ambos grupos las puntuaciones obtenidas en esta variables son similares ($p > 0.05$). Sin embargo, los valores del grupo que recibe de 5 mg/kg se iguala a los del grupo control a los 3-4 min, mientras que en el grupo con 30 mg/kg continúan altas y diferentes a las del grupo con 5 mg/kg hasta los 7-8 minutos (minutos situados entre 3-4 y 7-8, $p < 0.05$), minuto en el cual, como se dijo anteriormente, el grupo con la dosis alta se igualará al grupo control.

La triple interacción de los comportamientos atáxicos alcanzó la significación estadística (*sexo*dosis*tiempo*: $F_{7,74,112.25} = 3.77$; $p < 0.01$; **Figura E-I.4E**) lo que indica que los tres tratamientos provocan efectos diferentes lo largo del tiempo y además de manera particular según el sexo (**Figura E-I.4E**). Las comparaciones por parejas de la triple interacción se pueden comprobar en la figura 6 y la significación estadística del resto de interacciones y de los factores principales se pueden comprobar en la **Tabla E-I.2**.

Como cabría esperar, los grupos control de hembras y de machos se mantuvieron por debajo del nivel patológicos (valor 1). Tanto las comparaciones con el minuto inicial dentro de los grupos control (**Figura E-I.5A** cuadros verdes), como las realizadas en los mismos minutos entre ambos grupos (**Figura E-I.5B**, cuadros marrones) no fueron significativas.

La dosis de 5 mg/kg produjo comportamientos atáxicos en comparación con los grupos control, pero estos efectos son más prolongados en los machos que en las hembras. En concreto en hembras, el periodo en el que muestran ataxias dura hasta los minutos 4-5 min, donde se igualan a su grupo control ($p > 0.05$. **Figura E-I.5A** derecha, cuadros morados). También es hasta este minuto que muestran valores patológicos (por encima del valor 1). Sin embargo, los machos que habían recibido esta dosis tardaron más tiempo en igualarse a su grupo control y no fue hasta el minuto 8-9 cuando ocurrió ($p > 0.05$. **Figura E-I.5A** izquierda, cuadros morados). Además, alcanzarían valores no patológicos en el minuto 5-6. La menor duración de los comportamientos atáxicos en las hembras se ve reflejada también cuando se comparan ambos sexos con su minuto inicial. En hembras, el intervalo de tiempo que es diferente al valor de su minuto inicial (en el cual se producen los máximos de comportamientos atáxicos) es el 1-2 min y en machos a los 4-5 min. (**Figura E-I.5A**, cuadros verdes).

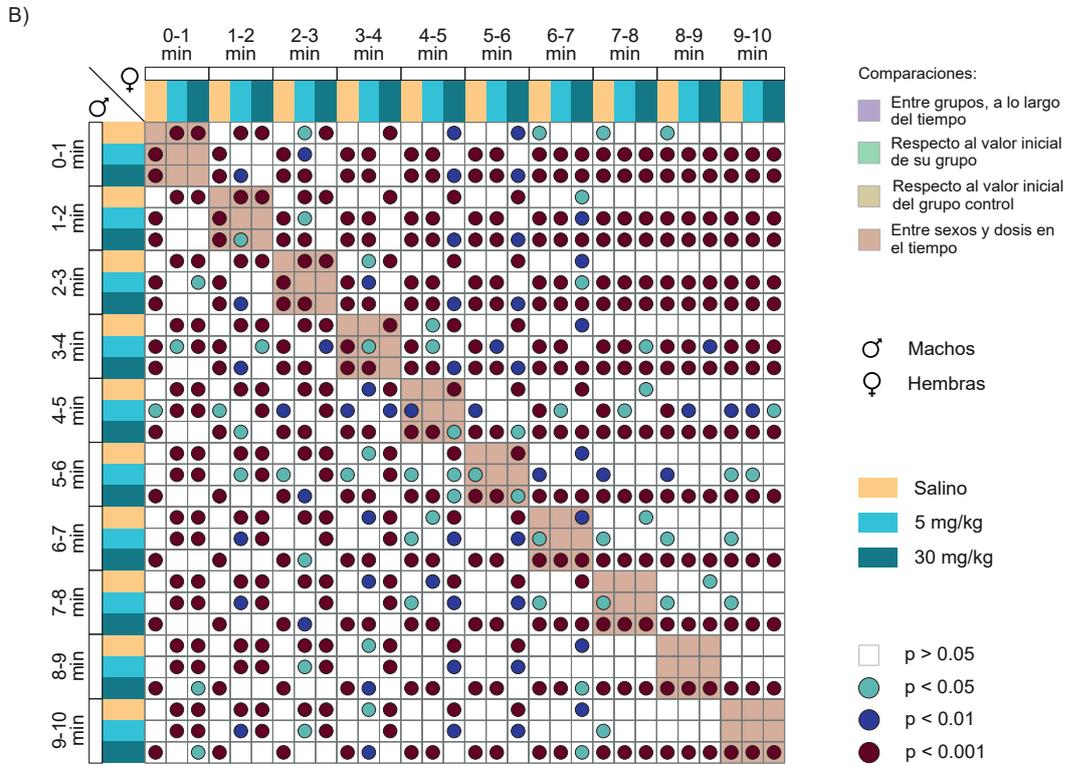
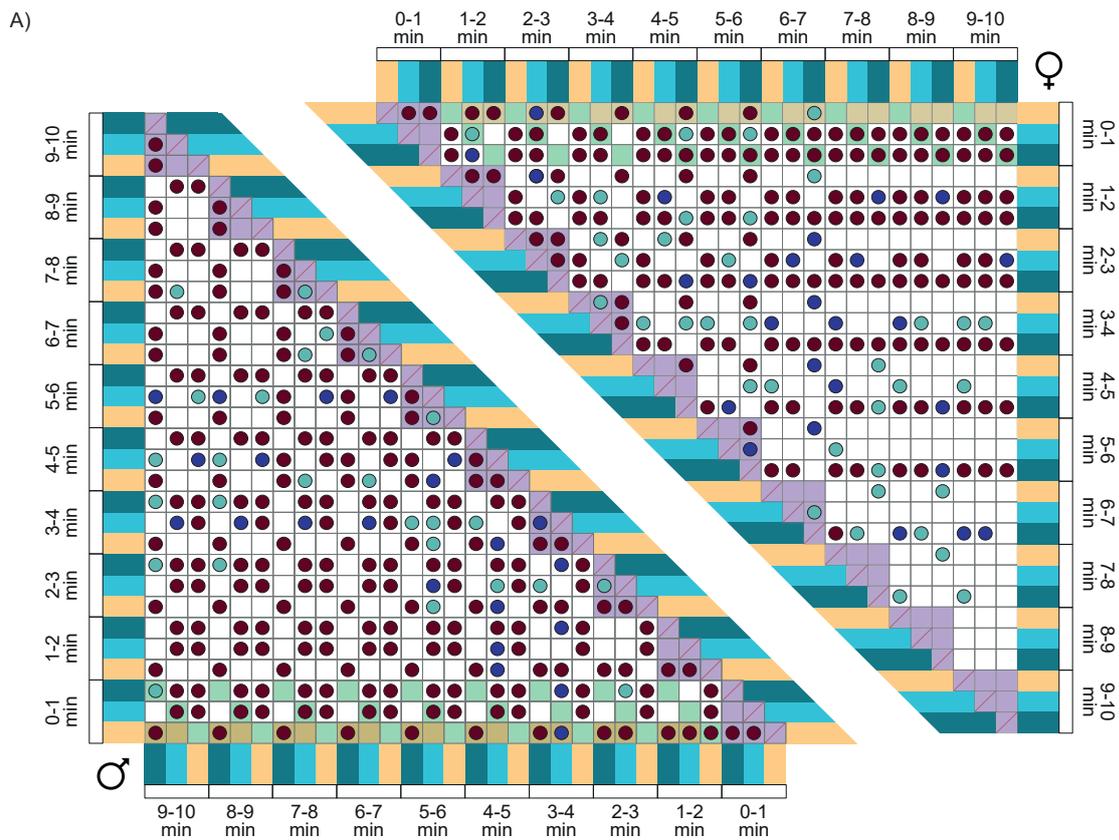


Fig. E-I.5: Comparaciones múltiples de la triple interacción (*dosis*sexo*tiempo*) de la evolución temporal de las ataxias. (Continúa en la página siguiente)

Fig. E-I.5: (Continuación). **A)** Comparaciones de múltiples a lo largo del tiempo entre dosis para hembras (figura de la izquierda) y machos (figura de la derecha). **B)** Comparaciones de múltiples a lo largo del tiempo entre dosis y sexos. En ambas figuras los rectángulos de colores situados en los extremos de las figuras representan a cada uno de los grupos (amarillo = grupo salino; azul = 5 mg/kg; y verde oscuro = 30 mg/kg); el color de relleno de los cuadrados las comparaciones que se realizan (morado = comparaciones entre grupos a lo largo del tiempo; verde claro = comparación de cada grupo respecto a su valor inicial; marrón claro = comparación de ambas dosis respecto al valor inicial del grupo control; y rojo claro = comparaciones entre grupos y sexos a lo largo del tiempo); y los círculos situados dentro de los cuadrados la significación estadística entre las comparaciones por parejas realizadas mediante el Test de *Tukey* (sin círculo = $p > 0.05$; círculo aguamarina = $p < 0.05$; círculo azul oscuro = $p < 0.01$; y círculo marrón oscuro = $p < 0.001$).

La dosis de 30 mg/kg también indujo comportamientos atáxicos mayores en comparación con el grupo control y que los inducidos por la dosis de 5 mg/kg. Tanto en las hembras como en machos se da este perfil, sin embargo, las hembras vuelven a los niveles no patológicos e iguales a los de su grupo control a los 6-7 min ($p > 0.05$. **Figura E-I.5A** derecha, cuadros morados) y a niveles del primer minuto de su control en el minuto 7-8 ($p < 0.05$. **Figura E-I.5A** derecha, cuadros marrón claro). De igual manera, los niveles de ataxias se mantuvieron similares a su valor inicial hasta los 4-5 min ($p < 0.05$. **Figura E-I.5A** derecha, cuadros verdes).

Los machos se mantienen con niveles de ataxias patológicos y más elevados que su grupo control durante todo el test ($p < 0.05$. **Figura E-I.5A** izquierda cuadros morados) y tampoco se igualaron en ningún momento al valor inicial del grupo control ($p < 0.05$. **Figura E-I.5A** izquierda, cuadros marrón claro). Además, las puntuaciones posteriores a su valor inicial fueron igual a este hasta los 8-9 minutos ($p > 0.05$. **Figura E-I.5A** izquierda cuadros verdes), lo que confirma la presencia de ataxias durante casi toda la prueba.

Esta mayor afectación de los machos respecto a las hembras en esta dosis se ve reflejada también cuando se comparan las dinámicas temporales de ambos sexos. En el intervalo de tiempo situado entre los minutos 4-5 los valores de las hembras son ya significativamente menores que los de los machos, continuando con este patrón durante el resto del test ($p < 0.05$. **Figura E-I.5B**, cuadros marrones). Este efecto no se produce con la dosis de 5 mg/kg, ya que las ataxias entre hembras y machos son iguales durante todo el registro (en el minuto 3-4 minutos donde brevemente las de las hembras caen por debajo de las de los machos, pero se recuperan. $p < 0.05$. **Figura E-I.5B**, cuadros marrones). Demostrando de nuevo una mayor sensibilidad por parte de los machos a los efectos psicóticos de la ketamina. En coherencia con estos resultados se puede observar que los valores de ataxias entre los machos que han recibido 30 mg/kg de ketamina y las hembras con 5 mg/kg también se separan a partir del segundo minuto ($p < 0.05$). Por último, también se puede observar que el efecto de los 30 mg/kg de las hembras es igual al de los machos que han recibido 5 mg/kg durante todo el registro ($p > 0.05$. **Figura E-I.5B**, cuadros marrones).

Como conclusión, los resultados anteriores demuestran que ambas dosis de ketamina estudiadas producen efectos psicomiméticos dado que todas las variables se encuentran afectadas en comparación con el control y, además, en el caso específico de las ataxias se registran valores considerados patológicos. También se puede concluir que estos efectos indeseados son mayores cuando la dosis administrada es la de 30 mg/kg en comparación con la de 5 mg/kg. Y, por último, parece que los machos son más sensibles a los efectos psicomiméticos de la ketamina que las hembras, especialmente en el caso de la dosis elevada.

Tabla E-I.2: Valores estadísticos de las evoluciones temporales durante el primer NORT.

Factores	Exploración		Locomoción		Ataxias		Estereotipias	
	Fase de entr.	Fase de test	Fase de entr.	Fase de test	Fase de entr.	Fase de test	Fase de entr.	Fase de test
Dosis	$F_{2,31} = 0.77$	$F_{2,31} = 11.96^{**}$	$F_{2,29} = 1.49$	$F_{2,30} = 1.84$	$F_{2,33} = 2.74$	$F_{2,29} = 98.17^{***}$	-	$F_{2,327} = 181.89^{***}$
Sexo	$F_{1,31} = 0.009$	$F_{1,32} = 0.33$	$F_{1,29} = 3.58$	$F_{1,30} = 0.66$	$F_{1,33} = 11.96^{**}$	$F_{1,29} = 11.53^*$	-	$F_{1,327} = 0.34$
Tiempo	$F_{5.8,180.8} = 16.57^{***}$	$F_{4.6,153.6} = 4.22^*$	$F_{5.5,161.7} = 7.87^{***}$	$F_{3.5,107.8} = 3.75^{**}$	$F_{4.6,154.3} = 7.46^{***}$	$F_{3.8,112.2} = 51.20^{***}$	-	$F_{2,327} = 20.01^{***}$
Dosis*Sexo	$F_{2,31} = 0.51$	$F_{2,31} = 0.30$	$F_{2,29} = 0.66$	$F_{2,30} = 0.59$	$F_{2,33} = 2.25$	$F_{2,29} = 2.96$	-	$F_{2,237} = 1.48$
Dosis*Tiempo	$F_{11.6,180.8} = 0.63$	$F_{9.7,150.8} = 7.60^{***}$	$F_{11.1,161.7} = 0.66$	$F_{7.1,107.8} = 6.01^{***}$	$F_{9.3,154.3} = 0.73$	$F_{7.7,112.2} = 10.62^{***}$	-	$F_{F18,327} = 5.64^{***}$
Sexo*Tiempo	$F_{5.8,180.8} = 3.70^{**}$	$F_{4.8,150.8} = 1.31$	$F_{5.5,161.7} = 1.51$	$F_{3.5,107.8} = 0.71$	$F_{4.6,154.3} = 0.73$	$F_{3.8,112.2} = 3.78^{**}$	-	$F_{9,327} = 0.96$
D*S*T	$F_{11.6,180.8} = 0.85$	$F_{9.7,150.8} = 2.34^*$	$F_{11.1,161.7} = 0.84$	$F_{7.1,107.8} = 1.28$	$F_{9.3,154.3} = 0.99$	$F_{7.7,112.2} = 3.77^{**}$	-	$F_{18,327} = 0.33$

Nota: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

- 2 horas después de la administración los efectos psicóticos de la ketamina han desaparecido

2 horas después de la administración del fármaco no se observaron diferencias en ninguno de los grupos ni la fase de entrenamiento ni en la de test (*dosis*. Entrenamiento: $F_{2,33} = 1.32$, $p > 0.05$; test: $F_{2,33} = 0.144$, $p > 0.05$), ni el *sexo* (Entrenamiento: $F_{1,33} = 1.02$, $p > 0.05$; test: $F_{1,33} = 2.37$, $p > 0.05$) ni la interacción entre ambos factores (*dosis*sexo*. Entrenamiento: $F_{2,33} = 0.13$, $p > 0.05$; test: $F_{2,33} = 0.73$, $p > 0.05$). **Figura E-I.6a1 y b1**).

Respecto a las evoluciones temporales de la exploración, en ninguna de las partes del test la triple interacción alcanzó la significación estadística (*dosis*sexo*tiempo*: entrenamiento, $F_{9.24,143.19} = 0.73$, $p > 0.05$; test: $F_{18,288} = 1.06$, $p > 0.05$. **Figura E-I.6a2 y b2**), pero si lo fue el factor tiempo (entrenamiento, $F_{4.62,143.19} = 2.77$, $p < 0.05$; test: $F_{9,288} = 5.16$, $p < 0.001$. **Figura E-I.6a3 y b3**) demostrando de nuevo la habituación de los animales a los objetos a lo largo del test, cuando esta era comparada con el valor inicial. Para ello se agruparon los valores de todos los animales a lo largo del tiempo independientemente de su sexo y de la dosis que habían recibido. Esta habituación se pudo confirmar estadísticamente en la fase de test, donde los animales disminuyeron su exploración (respecto a su valor inicial) a partir del minuto 7-8 ($p < 0.05$). El resto de las factores e interacciones no fueron significativos y sus valores estadísticos pueden verse en la **Tabla E-I.3**.

Al igual que en la exploración, en la discriminación no hubo efectos del factor *dosis* (D1: $F_{2,33} = 0.88$, $p > 0.05$; D2: $F_{2,33} = 0.07$, $p > 0.05$; D3: $F_{2,33} = 0.07$, $p > 0.05$) ni de la interacción (*dosis*sexo*. D1: $F_{2,33} = 0.04$, $p > 0.05$; D2: $F_{2,33} = 0.16$, $p > 0.05$; D3: $F_{2,33} = 0.16$, $p > 0.05$) pero si los hubo en el factor *sexo* (D1: $F_{1,33} = 9.87$, $p < 0.01$; D2: $F_{1,33} = 7.84$, $p < 0.01$; D3:

$F_{1,33} = 7.84, p < 0.01$), siendo mayores las puntuaciones de las hembras en todos los casos (Figura E-I.6C).

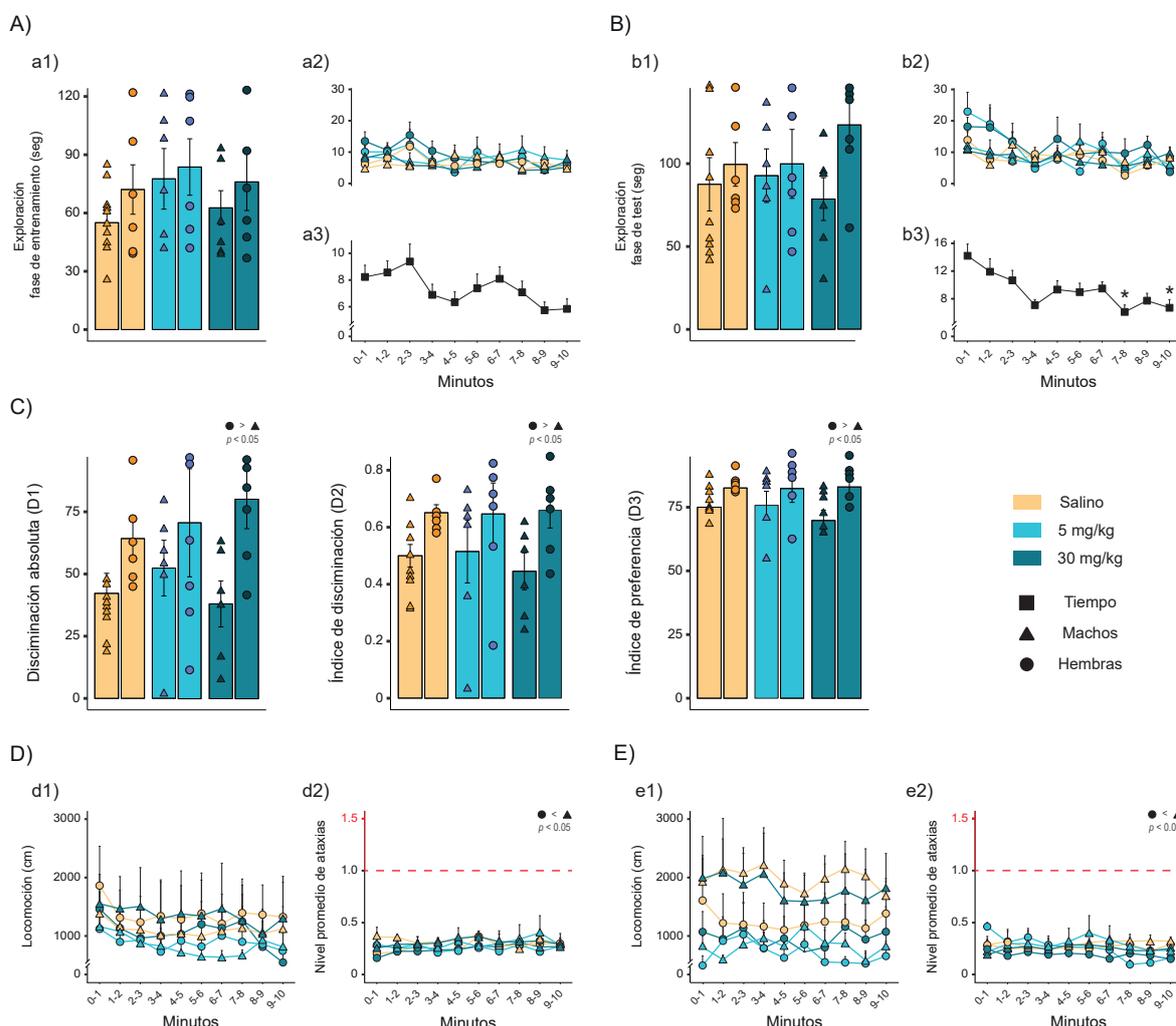


Fig. E-I.6: Exploración total, discriminación y evoluciones temporales de la exploración, locomoción y ataxias durante el NORT realizado a las 2 horas tras la administración. A) Exploración total durante la fase de entrenamiento (a1) y su evolución temporal (a2). En esta ocasión solamente se alcanzó la significación estadística en el factor principal tiempo de la evolución temporal que se encuentra representado en la figura a3. B) Exploración total durante la fase de test (b1) y su evolución temporal (b2). De nuevo, solamente se alcanzó la significación estadística en el factor principal tiempo de la evolución temporal y se encuentra representada en la figura b3. Los asteriscos de la figura representan la significación estadística de los valores respecto al valor de su minuto inicial. C) Discriminación absoluta, índice de discriminación e índice de preferencia obtenidos durante la fase de test. En todos los casos se alcanzó la significación estadística del factor principal sexo, siendo las puntuaciones de las hembras mayores que las de los machos. D y E) Evoluciones temporales de la locomoción (d1 y e1) y las ataxias (d2 y e2) durante la fase de entrenamiento (D) y la de test (E). En ambas fases únicamente alcanzó la significación estadística el factor sexo de las ataxias, siendo mayores las puntuaciones de los machos en ambos casos. Las diferentes formas de las gráficos de líneas representan la media y las barras el \pm SEM. En los gráficos de barras, se representa la media y la \pm SEM. Test de Tukey. *, $p < 0.05$).

En conjunto, los resultados de la exploración y la discriminación demuestran que 2 horas después de su administración, los efectos de la ketamina ya no estaban presentes e incluso parece existir un mayor reconocimiento del objeto nuevo respecto del objeto conocido por

parte de las hembras.

Durante ambas fases también se midieron las ataxias y la locomoción y, al igual que en la fase de entrenamiento anterior a la administración, tampoco se registraron estereotipias. La locomoción no alcanzó ninguna significación estadística en ninguna de las dos partes del test (**Figura E-I.6d1** para la fase de entrenamiento y **Figura E-I.6e1** para la de test. Ver **Tabla E-I.3** para los resultados de los factores e interacciones). En cuanto a los comportamientos atáxicos, en ambas fases del test solamente se alcanzó la significación estadística en el factor sexo (entrenamiento: $F_{1,33} = 4.55$, $p < 0.05$; test: $F_{1,33} = 2.37$, $p < 0.05$). Los valores de los machos (agrupados sin tener en cuenta los otros factores) fueron mayores que los de las hembras ($p < 0.001$) pero en ningún caso superaron el umbral patológico (**Figura E-I.6d2** para la fase de entrenamiento y **Figura E-I.6e2** para la de test). De nuevo, estos resultados, junto a los obtenidos en la exploración, confirmaron la desaparición del efecto psicótico 2 horas después de la administración.

Tabla E-I.3: Valores estadísticos de las evoluciones temporales durante el segundo NORT (2 horas después).

Factores	Exploración		Locomoción		Ataxias		Estereotipias	
	Fase de entr.	Fase de test	Fase de entr.	Fase de test	Fase de entr.	Fase de test	Fase de entr.	Fase de test
Dosis	$F_{2,31} = 0.95$	$F_{2,32} = 0.71$	$F_{2,33} = 0.52$	$F_{2,33} = 2.33$	$F_{2,31} = 0.08$	$F_{2,32} = 2.09$ ***	-	-
Sexo	$F_{1,31} = 3.38$	$F_{1,32} = 0.61$	$F_{1,33} = 0.001$	$F_{1,33} = 2.87$	$F_{1,33} = 4.55$ *	$F_{1,32} = 2.37$ *	-	-
Tiempo	$F_{4.6,143.1} = 2.77$ *	$F_{9,288} = 5.16$ ***	$F_{4.6,153.6} = 1.05$	$F_{5.9,197.5} = 1.17$	$F_{5.7,188.6} = 1.41$	$F_{5.6,179.9} = 0.90$	-	-
Dosis*Sexo	$F_{2,31} = 0.25$	$F_{2,32} = 0.23$	$F_{2,33} = 0.26$	$F_{2,33} = 0.40$	$F_{2,33} = 0.25$	$F_{2,33} = 0.14$	-	-
Dosis*Tiempo	$F_{9.2,143.1} = 0.51$	$F_{18,288} = 1.39$	$F_{9.3,153.6} = 1.01$	$F_{11.9,197.5} = 0.89$	$F_{11.4,188.6} = 1.25$	$F_{11.2,179.9} = 0.67$	-	-
Sexo*Tiempo	$F_{4.6,143.1} = 2.23$	$F_{9,288} = 1.04$	$F_{4.6,153.6} = 1.14$	$F_{5.9,197.5} = 0.63$	$F_{5.7,188.6} = 0.86$	$F_{5.6,179.9} = 1.29$	-	-
D*S*T	$F_{9.2,143.1} = 0.73$	$F_{18,288} = 1.06$	$F_{9.3,153.6} = 0.64$	$F_{11.9,197.5} = 1.01$	$F_{11.4,188.6} = 0.99$	$F_{11.2,179.9} = 1.24$	-	-

Nota: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

La ketamina produce un efecto antidepresivo detectable a las 2 horas tras su administración y que persiste hasta 24 horas, pero desaparece los 7 días

Como se explicó anteriormente, 2 horas después de la administración de sustancias se llevó a cabo un TST para evaluar el potencial efecto antidepresivo de la ketamina. En este caso, el ANOVA de dos factores mostró un efecto del factor *dosis* ($F_{2,32} = 24.31$, $p < 0.001$) pero no en el factor *sexo* ($F_{1,32} = 1.23$, $p > 0.05$), ni tampoco de la interacción de ambos factores (*dosis*sexo*: $F_{2,32} = 0.42$, $p > 0.05$). Por lo tanto, los efectos de ambas dosis parecen equivalentes y no se observan diferencias entre sexos. En concreto, ambas dosis produjeron una disminución de la inmovilidad en comparación con el grupo control ($p < 0.001$, **Figura E-I.7**).

De igual manera, para comprobar si el efecto antidepresivo era sostenido en el tiempo, se realizó un FST a las 24 horas y a los 7 días después de la administración. Y, en ambos casos, se midieron conductas pasivas del animal, como es la inmovilidad, y conductas activas, como son la natación y la escalada.

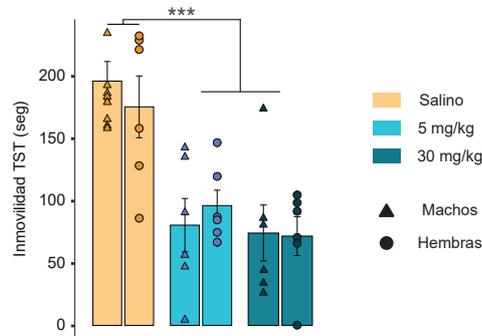


Fig. E-I.7: TST realizado a las 2 horas de la administración de ketamina. Tras la administración de ketamina o salino se puede observar una disminución significativa del tiempo de inmovilidad en comparación con el grupo control. En los gráficos de barras, se representa la media y en las barras \pm SEM. ***, $p < 0.01$.

El ANOVA de dos vías del primer FST para el comportamiento de inmovilidad (**Figura E-I.8A**), reveló significación estadística del factor *dosis* ($F_{2,32} = 15.69, p < 0.001$), pero no del *sexo* ($F_{1,32} = 3.26, p > 0.05$) ni de la interacción entre ambos factores (*sexo*dosis*: $F_{2,32} = 0.77; p > 0.05$). Lo que, al igual que en el TST, demuestra un efecto equivalente de ambas dosis e igual en ambos sexos. En detalle, los animales que habían recibido ketamina, cualquiera de las dos dosis, permanecieron durante menos tiempo inmóviles que aquellos a los que se les administró salino ($p < 0.001$), por lo tanto, a las 24 horas se observan conductas que indican que el potencial antidepresivo de la ketamina se prolongaría hasta las 24 horas, al administrar cualquiera de las dos dosis.

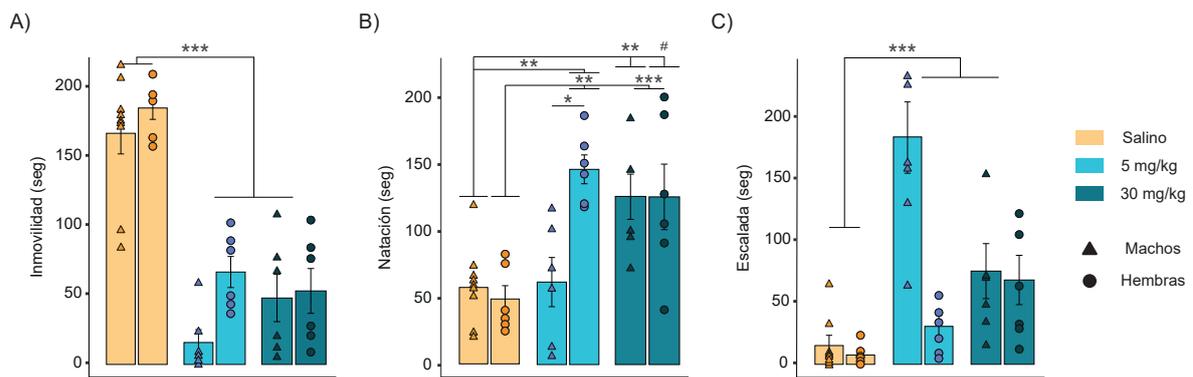


Fig. E-I.8: FST realizado a las 24 horas de la administración de ketamina. A) La inmovilidad de los animales, alcanzó la significación estadística en el factor principal *dosis* demostrando que, aquellos animales que habían recibido ketamina, sin importar su sexo, permanecían durante menos tiempo inmóviles que los que había recibido salino. B y C) Los comportamientos activos de supervivencia como son la natación (B) y la escalada (C) aumentaron en comparación con el grupo control. Para la natación, se alcanzó la significación estadística en la interacción *sexo*dosis*, mientras que en la escalada únicamente lo alcanzó el factor principal *dosis*. En los gráficos de barras, se representa la media y la \pm SEM. Test de Tukey. #, $p \leq 0.06$; *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

El ANOVA de dos vías para la conducta de natación (**Figura E-I.8B**), volvió a confirmar el

efecto de la *dosis* ($F_{2,32} = 15.69, p < 0.001$) y, en este caso, de la interacción entre este factor y el sexo (*sexo*dosis*; $F_{2,32} = 5.37, p < 0.01$), aunque no fue significativo el factor principal *sexo* ($F_{1,32} = 0.71, p > 0.05$). Tanto los machos como las hembras que habían recibido 30 mg/kg de ketamina mostraron puntuaciones mayores que su grupo control (Machos: $p < 0.01$; hembras: $p < 0.001$) y con el grupo control del sexo contrario (grupo salino machos *vs* 30 mg/kg hembras, $p = 0.05$; grupo salino hembras *vs* 30 mg/kg machos, $p < 0.001$). En el grupo que había recibido 5 mg/kg se observó que las hembras nadaron durante más tiempo que su grupo control ($p < 0.01$) y de manera similar al grupo de su mismo sexo con 30 mg/kg ($p > 0.05$), pero en esta ocasión, los machos no mostraron diferencias respecto su grupo control ($p > 0.05$), ni con ninguno de los sexos del otro grupo experimental ($p > 0.05$).

El análisis de la escalada (**Figura E-I.8C**), mostró un efecto significativo de la *dosis* ($F_{2,32} = 14.45, p < 0.001$), pero no con el factor *sexo* ($F_{1,32} = 1.81, p > 0.05$) ni de la interacción entre ambos factores (*dosis*sexo*: $F_{2,32} = 2.34, p > 0.05$), indicando que el tiempo de escalada fue mayor en todos los animales que habían recibido ketamina independientemente de la dosis recibida y el sexo ($p < 0.001$).

Estos resultados confirmaron el mantenimiento de efecto antidepressivo inducido por la ketamina 24 horas después de su administración, sin embargo, los análisis del FST a los 7 días (**Figura E-I.9**) reflejaron que no había efectos de ningún ya que las puntuaciones de inmovilidad (**Figura E-I.9A**) y natación (**Figura E-I.9A**) fueron iguales en todos los grupos y sexos (ANOVA de dos factores. Inmovilidad. *dosis*: $F_{2,32} = 2.25, p > 0.05$; *sexo*: $F_{1,32} = 2.47, p > 0.05$. Natación. *dosis*: $F_{2,32} = 1.39, p > 0.05$; *sexo*: $F_{1,32} = 0.25, p > 0.05$) ni tampoco fueron significativas las interacciones entre ellos (Inmovilidad. *sexo*dosis*: $F_{2,32} = 1.27, p > 0.05$. Natación. *sexo*dosis*: $F_{2,32} = 0.58, p > 0.05$). Sin embargo, para la variable escalada (**Figura E-I.9A**) sí que se observaron diferencias entre sexos (*sexo*: $F_{1,32} = 4.79, p < 0.05$), siendo mayores las puntuaciones de los machos ($p < 0.05$). Sin embargo, estas diferencias no se pueden achacar al efecto antidepressivo de la ketamina ya que el factor *dosis* ($F_{2,32} = 1.45, p > 0.05$) y la interacción (*sexo*dosis*: $F_{2,32} = 0.49, p > 0.05$) no fueron estadísticamente diferentes.

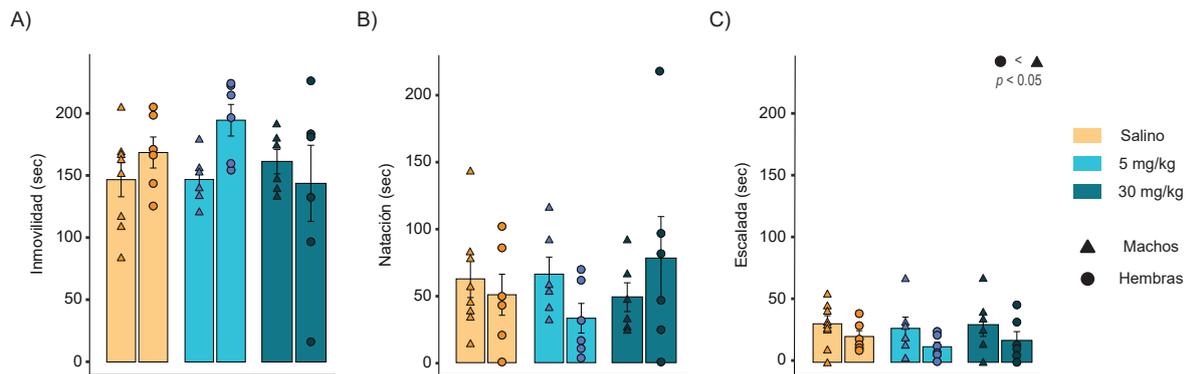


Fig. E-I.9: FST realizado 7 días después de la administración de ketamina. Tanto la inmovilidad (A) como la natación (B) de los animales, de los grupos que habían recibido ketamina se igualaron al grupo control 7 días después de la administración. La inmovilidad (C) sí que alcanzó un efecto significativo en el factor principal *sexo*, siendo mayores las puntuaciones de los machos (sin tener en cuenta la dosis) que la de las hembras. En los gráficos de barras, se representa la media y la \pm SEM.

Experimento II: Estudio de los efectos sobre la expresión de proteínas relacionadas con plasticidad sináptica inducidos por dos dosis de ketamina con potencial antidepressivo, una baja (5 mg/kg) y una alta (30 mg/kg) en HPC y vmPFC

Con el fin de encontrar biomarcadores moleculares en machos que correlacionaran con el efecto antidepressivo de la ketamina (**objetivo 5**) observado en los experimentos conductuales, se midió la expresión en HPC y vmPFC de distintas moléculas implicadas en procesos de plasticidad neuronal, como son mTOR, Akt, ERK (y sus formas fosforiladas/activas) y PSD95. Atendiendo a que los resultados de conducta demostraron efectos antidepressivos de las dos dosis a las 2 y las 24 horas, pero indicaron que estos habían desaparecido a la semana de la administración, estas mediciones se realizaron a estos tiempo tras la administración de ambas dosis de ketamina (todos machos. Para HPC, 5 mg/kg: $n = 6$, y 30 mg/kg: $n = 6$; para vmPFC: 5 mg/kg: $n = 6$, y 30 mg/kg: $n = 6$) o salino (HPC: $n = 6$; vmPFC: $n = 5$).

La ketamina aumenta la expresión de proteínas relacionadas con procesos de plasticidad cerebral en el hipocampo dorsal y la corteza prefrontal

2 horas después de la administración de ketamina, el ANOVA de una vía reveló, en HPC (**Figura E-II.1A**), un incremento de la forma fosforilada de Akt (pAkt: $F_{2,15} = 6.8$, $p < 0.01$) y de la ratio entre pAkt y Akt (pAkt/Akt: $F_{2,15} = 8.19$, $p < 0.01$). Este incremento se observó de manera significativa en el grupo al que se le había administrado la dosis de 30 mg/kg en comparación con el grupo control (pAkt: salino vs 30 mg/kg, $p < 0.01$; pAkt/Akt: salino vs 30 mg/kg, $p < 0.01$). En los animales que habían recibido 5 mg/kg ($p > 0.05$) este incremento mostró una tendencia cercana a la significación (pAkt/Akt: salino vs 5 mg/kg, $p = 0.07$). Los niveles de pAkt al administrar esta dosis no experimentaron cambios (pAkt: salino vs 5 mg/kg, $p > 0.05$), al igual que tampoco ocurrió con los de Akt ($F_{2,15} = 0.46$, $p > 0.05$. **Figura E-II.1a1**).

El resto de las ANOVAS revelaron que no había cambios en la expresión de ninguna de las otras proteínas (mTOR: $F_{2,15} = 0.04$, $p > 0.05$; ERK: $F_{2,15} = 2.78$, $p > 0.05$; PSD95: $F_{2,15} = 0.85$, $p > 0.05$), ni en sus formas fosforiladas (pmTOR: $F_{2,15} = 0.045$, $p > 0.05$; pERK: $F_{2,15} = 0.92$, $p > 0.05$), ni en sus ratio (pmTOR/mTOR: $F_{2,15} = 0.2$, $p > 0.05$; pERK/ERK: $F_{2,15} = 0.2$, $p > 0.05$. **Figura E-II.1a2,a3 y a4**).

En vmPFC también se produjeron cambios a las 2 horas (**Figura E-II.1B**). El ANOVA de una vía mostró incrementos tanto en Akt ($F_{2,14} = 48.02$, $p < 0.001$), como en su forma fosforilada (pAkt: $F_{2,13} = 26.58$, $p < 0.001$), pero no lo hizo en la ratio entre ambas (pAkt/AKT: $F_{2,13} = 2.66$, $p > 0.05$). La pruebas *post hoc* demostraron que en ambos casos el grupo que había recibido 5 mg/kg obtuvo puntuaciones mayores que los grupos que habían recibido salino y 30 mg/kg ($p < 0.001$; **Figura E-II.1b1**).

A las 2 horas, también aumentaron pERK ($F_{2,14} = 10.4$, $p > 0.01$) y la ratio pERK/ERK ($F_{2,14} = 10.28$, $p > 0.01$), pero no lo hizo ERK ($F_{2,14} = 2.76$, $p > 0.05$). En esta ocasión, las pruebas *post hoc* pusieron de manifiesto un efecto diferente de la dosis administrada: solo la dosis baja provocó cambios y estos fueron superiores a los del grupo salino y de 30 mg/kg de ketamina ($p < 0.01$). Respecto a la ratio, los ascensos respecto al control ($p < 0.01$ en ambas dosis) fueron iguales entre ambos grupos que habían recibido ketamina ($p > 0.05$. **Figura E-II.1b2**).

Los niveles de mTOR, también cambiaron a las 2 horas ($F_{2,14} = 6.22$, $p < 0.05$), pero

no lo hicieron los de pmTOR ($F_{2,14} = 1.66, p > 0.05$) ni la ratio entre ambas moléculas (pmTOR/mTOR: $F_{2,14} = 0.19, p > 0.05$). En esta ocasión, la dosis de 30 mg/kg dio lugar a niveles menores que la dosis de 5 mg/kg ($p < 0.01$, **Figura E-II.2b3**).

Por último y al igual que en HPC, no se detectaron cambios en los niveles de PSD95 ($F_{2,14} = 3.09, p < 0.05$; **Figura E-II.2b4**).

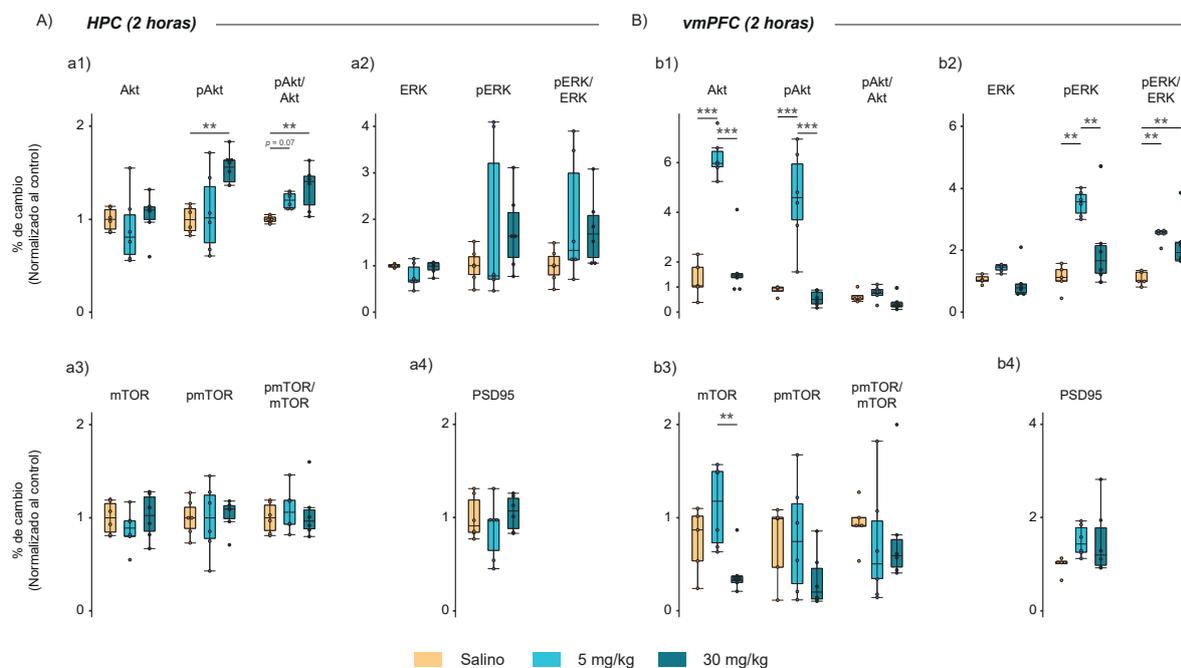


Fig. E-II.1: Cambios moleculares del HPC (A) y vmPFC (B) 2 horas después de la administración de ketamina/salino Porcentaje de cambio, normalizado al control de las proteínas: **a1)** y **b1)** Akt, pAkt, y la ratio entre ambas; **a2)** y **b2)** ERK, pERK, y la ratio entre ambas; **a3)** y **b3)** mTOR, pmTOR, y la ratio entre ambas; y **a4)** y **b4)** PSD95. Test de Tukey. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, ***, $p < 0.001$.

A las 24 horas de la administración, en HPC (**Figura E-II.2A**) se vieron también cambios en los animales que había recibido ketamina a ambas dosis, principalmente en ERK y mTOR (**Figura E-II.2a2** y **a3**). En concreto, tanto pERK ($F_{2,15} = 9.39, < 0.01$) como la ratio pERK/ERK ($F_{2,15} = 11.01, p < 0.01$) se vieron incrementadas tras la administración de ambas dosis en comparación con el grupo control (pERK: salino vs 5 mg/kg, $p < 0.01$; salino vs 30 mg/kg, $p < 0.05$. pERK/ERK: salino vs 5 mg/kg, < 0.001 ; salino vs 30 mg/kg, $p < 0.05$) no observándose diferencias en efecto generado entre dosis (pERK: 5 mg/kg vs 30 mg/kg, $p > 0.05$. pERK/ERK: 5 mg/kg vs 30 mg/kg, $p > 0.05$). En el caso de mTOR, solamente se encontró un incremento significativo de la ratio entre pmTOR/mTOR ($F_{2,15} = 17.52, p < 0.001$) inducido por ambas dosis (pmTOR/mTOR: salino vs 5 mg/kg, $p < 0.001$; salino vs 30 mg/kg, $p < 0.01$), y equivalente entre ellas (pmTOR/mTOR: 5 mg/kg vs 30 mg/kg, $p > 0.05$). Además, también se produjo un aumento de la forma fosforilada de mTOR tras la administración de ambas dosis de ketamina, sin embargo, este no alcanzó el nivel de significación ($F_{2,15} = 1.02, p > 0.05$). Por su parte, mTOR, se mantuvo sin cambios en todos los grupos ($F_{2,15} = 0.52, p > 0.05$).

En esta ocasión ni Akt, ni pAkt (incluida la ratio entre ambas) se vieron alteradas (Akt: $F_{2,15} = 1.22, p > 0.05$; pAkt: $F_{2,15} = 0.087, p > 0.05$; Akt /pAkt: $F_{2,15} = 0.62, p > 0.05$), ni tampoco PSD95 ($F_{2,15} = 1.21, p > 0.05$, **Figura E-II.2a1** y **a4**).

En vmPFC, 24 horas después del tratamiento (**Figura E-II.2B**) solo se encontró una tendencia a la significación en la ratio pERK/ERK ($F_{2,15} = 3.65, p = 0.05$) y estas diferencias se dieron únicamente al inyectar 5 mg/kg en comparación con los niveles del control ($p < 0.05$) pero no en comparación en el grupo que había recibido 30 mg/kg ($p > 0.05$). El resto de proteínas (mTOR: $F_{2,15} = 0.84, p > 0.05$; pmTOR: $F_{2,15} = 1.11, p > 0.05$; Akt: $F_{2,15} = 0.83, p > 0.05$; pAkt: $F_{2,15} = 2.29, p > 0.05$; y PSD95: $F_{2,15} = 2.33, p > 0.05$) y ratios (pmTOR/mTOR: $F_{2,15} = 1.25, p > 0.05$; pAkt/Akt: $F_{2,15} = 1.73, p > 0.05$) no experimentaron cambios.

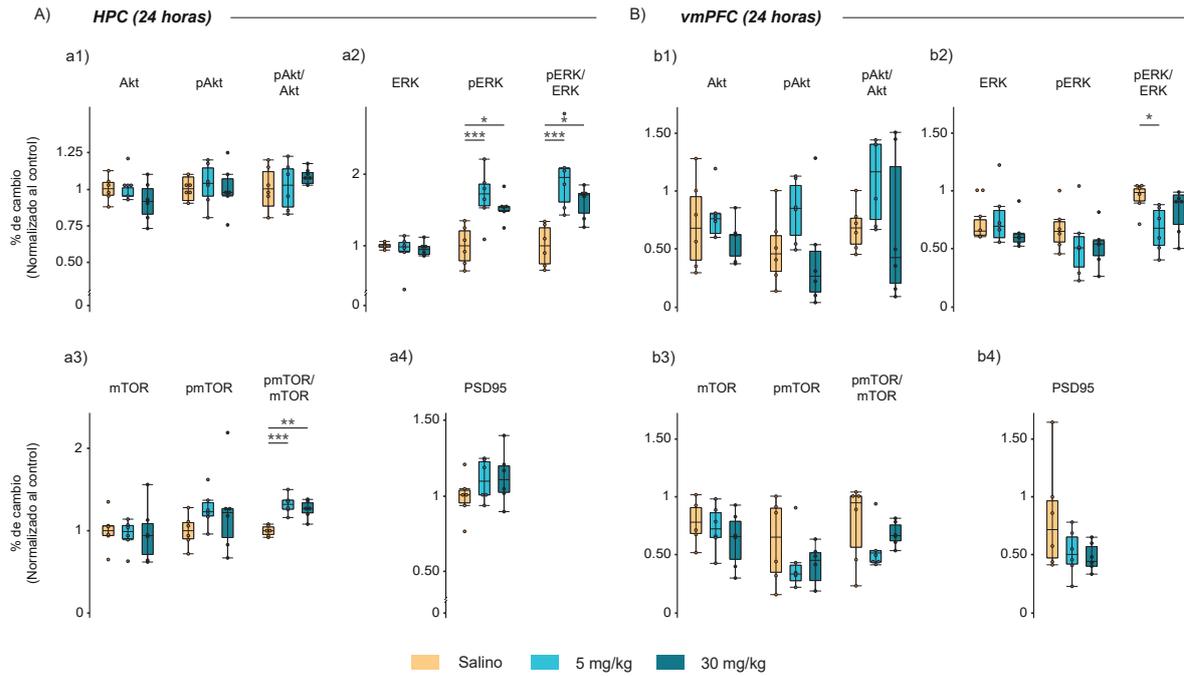


Fig. E-II.2: Cambios moleculares del HPC (A) y vmPFC (B) 24 horas después de la administración de ketamina/salino. Porcentaje de cambio, normalizado al control de las proteínas: **a1)** y **b1)** Akt, pAkt, y la ratio entre ambas; **a2)** y **b2)** ERK, pERK, y la ratio entre ambas; **a3)** y **b3)** mTOR, pmTOR, y la ratio entre ambas; y **a4)** y **b4)** PSD95. Test de Tukey. *, $p < 0.05$.

Experimento III: Efectos sobre la actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC producidos por la administración de ketamina a 5 y 30 mg/kg

Como se ha descrito anteriormente, el objetivo fundamental de este experimento es caracterizar el efecto a nivel de actividad eléctrica individual y coordinada de HPCd y vmPFC, tras administrar las dos dosis de ketamina en machos. Es decir, responder a los **objetivos 6,7 y 8**. Además, este análisis se llevó a cabo a lo largo de un eje temporal que nos permitiera correlacionarlo con las variables medidas a nivel conductual y molecular en los experimentos I y II.

Para ello, a un total de 12 animales se les sometió a una cirugía de implantación de electrodos y tras el periodo adecuado de recuperación y habituación se les realizó en días consecutivos: un registro basal (sin administración de sustancias), un registro tras la administración de salino (control de la administración intraperitoneal) y un registro tras la administración de ketamina, 5 mg/kg a la mitad de ellos y 30 mg/kg a la otra mitad. Además, se realizó otro registro al día siguiente a la administración, para conocer la actividad cerebral a las 24 horas y uno más a los 7 días de la misma y poder estudiar así los efectos a más largo plazo.

La ketamina provoca cambios particulares en la actividad de HPCd y vmPFC y con diferente perfil temporal según la dosis

Con el fin de establecer de manera objetiva la temporalidad de los efectos de la ketamina en las diferentes estructuras, se realizó un análisis de *clustering*, sobre los estados de vigilia tranquila, tal y como se explica en la metodología en su sección correspondiente. El número de divisiones dentro de cada clúster de datos fue obtenido a través del método "gap", el cual proporcionó un número óptimo de clústers [NOpC] en cada clúster, de manera no supervisada. La calidad de estas divisiones y de los clústers en sí, fue evaluada a través del índice cofenético de la distancia promedio intra-clúster y los valores obtenidos para cada uno de ellos pueden consultarse en la **Tabla E-III.1**.

Tabla E-III.1: Valor del índice cofenético de los clústers obtenidos

Área	Basal	Vehículo	Ketamina		24 horas		7 días	
	Todos	Todos	5 mg/kg	30 mg/kg	5 mg/kg	30 mg/kg	5 mg/kg	30 mg/kg
HPCd	0.74	0.78	0.94	0.94	0.87	0.79	0.89	0.86
vmPFC	0.79	0.71	0.99	0.89	0.89	0.76	0.89	0.86

Nota: valores obtenidos a través de la distancia promedio intracluster

Es importante recordar que, para todas las variables obtenidas en este capítulo, las medias de los grupos basal y salino fueron calculadas agrupando los datos de todos los animales independientemente de la dosis que fueran a recibir el día del registro de ketamina.

Tras la verificación histológica de la posición de los electrodos, se descartó un punto de registro para vmPFC de cada grupo (5 y 30 mg/kg, respectivamente). Por ello, la media de los grupos basal y salino está formada por $n = 12$ HPCd y $n = 10$ para los de vmPFC. Esta agrupación, tal y como se explicó en la metodología se hizo porque se asumió, y posteriormente fue confirmada

(a través del análisis de clústers), una estabilidad durante estos días para todos los animales. Para el resto de días (ketamina, 24 horas y 7 días), las medias de las variables estaban formadas por 5 o 6 animales por dosis ($n = 6$; para los registros de HPCd y $n = 5$ para los de vmPFC al eliminar un registro en cada grupo tras la verificación histológica).

El resultado del análisis de clústers indicó en los registros basal, vehículo, 24 horas y 7 días, la existencia de una sola distribución tanto para la señal de HPCd como la de vmPFC, es decir, que la actividad era homogénea a lo largo de todos los estados de vigilia tranquila [3] de las 2.5 horas de todo el registro. Todos los índices cofenéticos obtuvieron un valor por encima de 0.70 (Figura E-III.1 y Figura E-III.2 A, B, D, E [d1 y e1, para el grupo de 5 mg/kg y d2 y e2 para el de 30 mg/kg]).

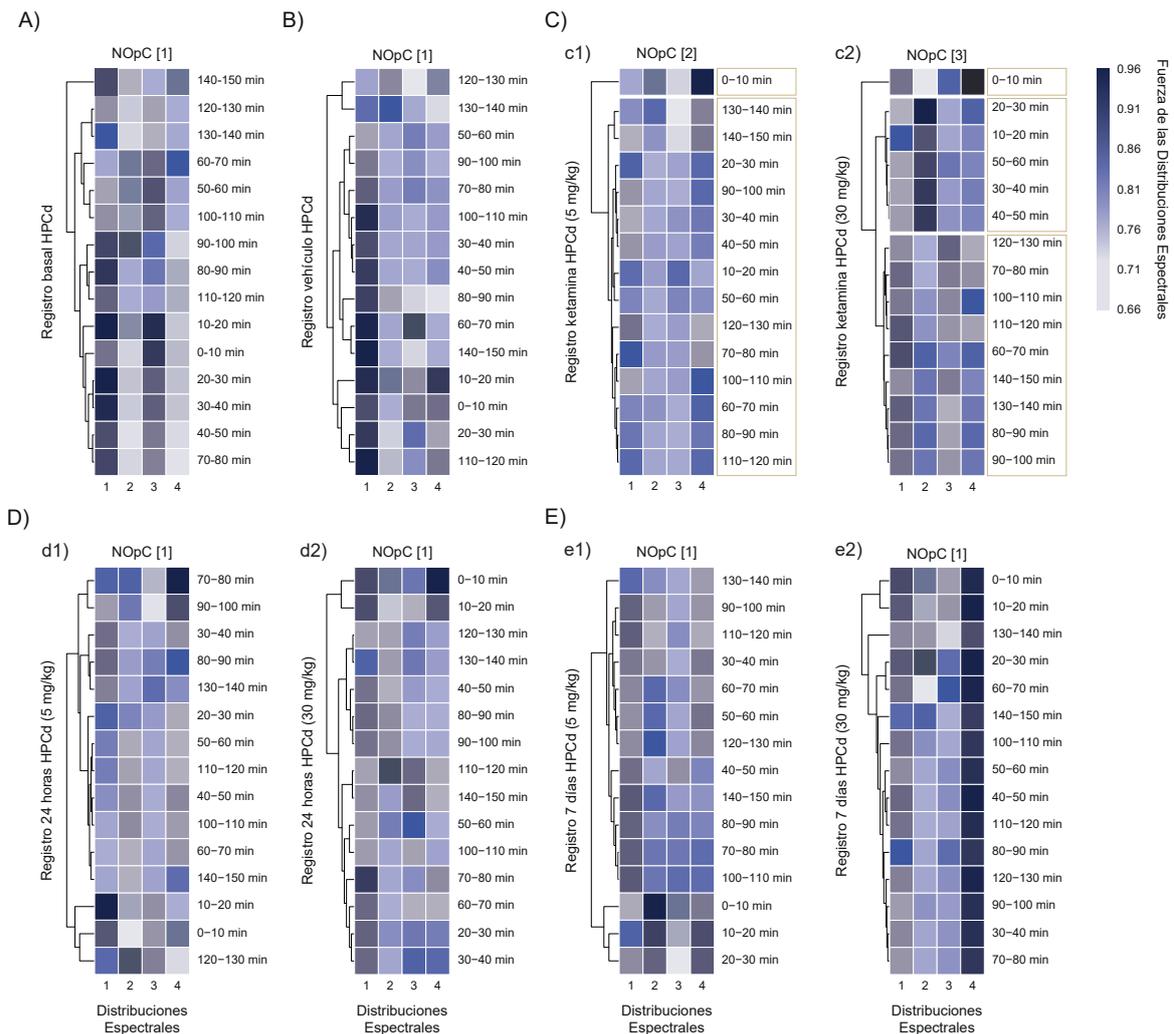


Fig. E-III.1: Dinámica temporal de los cambios a nivel de actividad eléctrica de HPCd. **A)** Registro basal [NOpC = 1]. **B)** Registro vehículo [NOpC = 1]. **C)** Registro ketamina: **c1**, 5 mg/kg [NOpC = 2]; **c2**, 30 mg/kg [NOpC = 3]. **D)** Registro 24 horas: **d1**, 5 mg/kg [NOpC = 1]; **d2**, 30 mg/kg [NOpC = 1]. **E)** Registro 7 días: **e1**, 5 mg/kg [NOpC = 1]; **e2**, 30 mg/kg [NOpC = 1].

En cambio, del registro del día que se administró la ketamina se obtuvieron más de un clúster, en número diferente en función de la dosis y el área registrada. Cuando la dosis administrada eran 5 mg/kg, tanto en HPCd como en vmPFC se obtuvieron dos clústers, que reflejaban

que la actividad durante los primeros 10 minutos era diferente al resto del registro (hasta los 150 minutos). En ambos casos el índice cofenético fue mayor de 0.90 (**Figura E-III.1 y Figura E-III.2 C [c1, para el grupo de 5 mg/kg y c2 para el de 30 mg/kg]**).

Tras administrar 30 mg/kg, en HPCd se obtuvieron 3 clústers, es decir, se detectaron 3 estados de actividad distintos: el primero abarcó los 10 primeros minutos del registro (0-10 min); el segundo se dio entre los 10 minutos y los 60 minutos; y el último, desde los 60 minutos hasta el final del registro. El índice cofenético en este caso fue de 0.94 (**Figura E-III.1c2**).

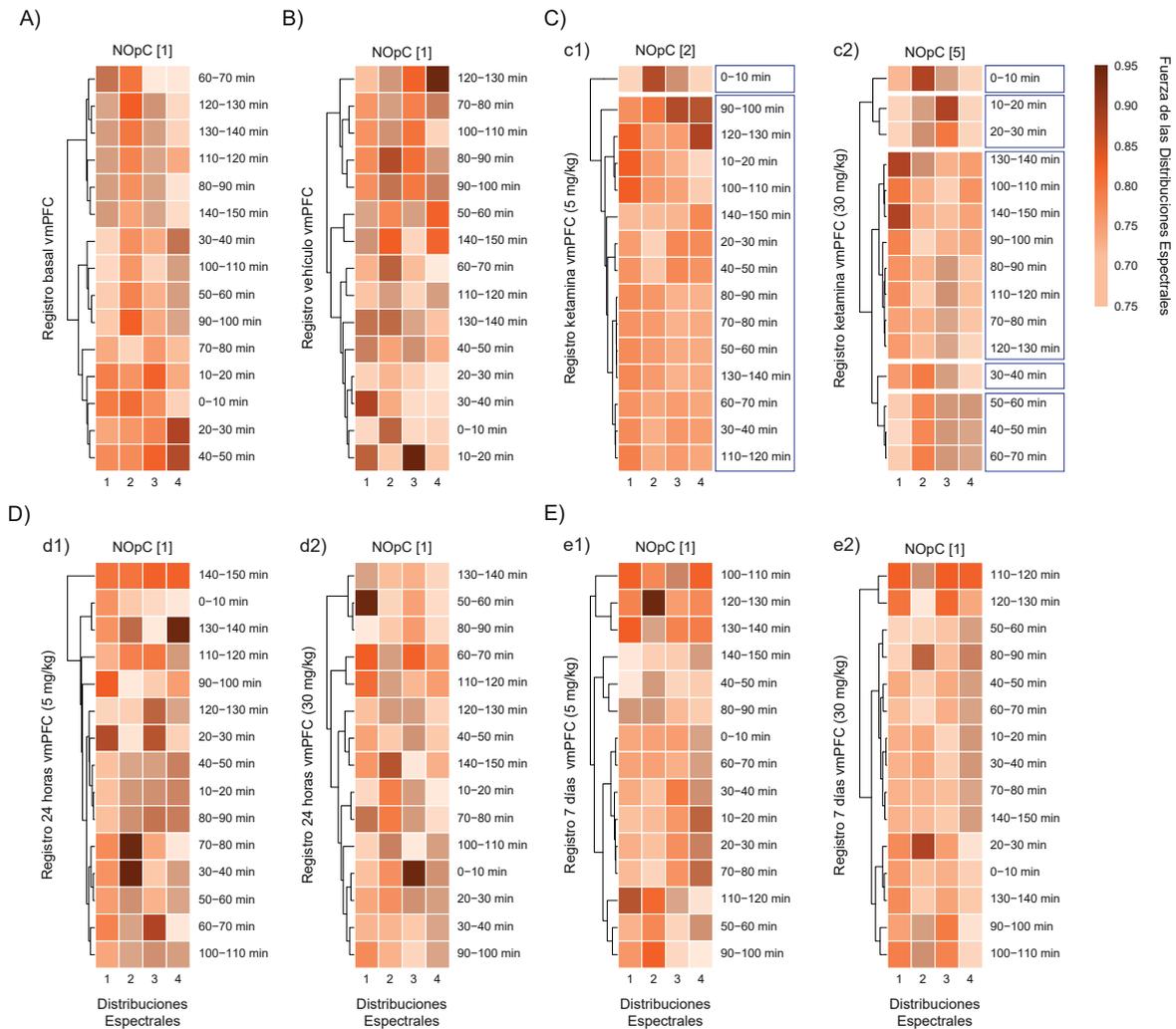


Fig. E-III.2: Dinámica temporal de los cambios a nivel de actividad eléctrica de vmPFC. A) Registro basal [NOpC = 1]. **B)** Registro vehículo [NOpC = 1]. **C)** Registro ketamina: **c1**, 5 mg/kg [NOpC = 2]; **c2**, 30 mg/kg [NOpC = 5]. **D)** Registro 24 horas: **d1**, 5 mg/kg [NOpC = 1]; **d2**, 30 mg/kg [NOpC = 1]. **E)** Registro 7 días: **e1**, 5 mg/kg [NOpC = 1]; **e2**, 30 mg/kg [NOpC = 1].

En vmPFC se obtuvieron 5 estados de actividad distintos tras la administración de la ketamina: durante los 10 primeros minutos de registro; entre los 10 y 30 minutos, entre 30 y 40 minutos, entre 40 y 70 minutos y desde los 70 minutos hasta el final del registro. En este caso, el valor del índice cofenético fue de 0.89 (**Figura E-III.2c2**).

En conjunto, estos resultados nos indican, por un lado, la estabilidad de la señal electrofisiológica los días previos y posteriores a la administración de ketamina, dándonos la oportunidad

de promediar todos los valores de este registro en uno solo. Por otro lado, vemos que la administración de ketamina induce cambios en la actividad de las estructuras estudiadas con un perfil temporal distinto y que son de menor duración menor en el caso de la dosis más baja y podemos a partir de ahora estudiar cambios en la actividad cerebral siguiendo la estructura temporal en que objetivamente se producen estos cambios.

La administración de ketamina afecta a las potencias de las oscilaciones en HPCd y vmPFC, pero de manera diferente entre estructuras y según la dosis administrada

Una vez determinados los periodos de tiempo que describen de manera objetiva la evolución temporal en la que se manifiestan cambios en la actividad tras la administración de ketamina, pasamos a realizar cálculos concretos para describir en qué consisten estos cambios. Tal y como se indicó en los métodos, para todas las variables analizadas se calculó el porcentaje de cambio respecto del basal en cada uno de estos clústers.

En estos experimentos la estadística se realizó a través de técnicas de ANOVA mixto con un solo factor intra-sujetos, el *tiempo*. No se pudo añadir el factor entre-sujeto (en este caso, la dosis) debido a las diferencias temporales de los efectos encontradas a través de la agrupación por clústers, es decir, no se pudo comparar estadísticamente entre dosis. La prueba *post hoc* utilizada fue el test de Dunnett, donde todos las medias de registros son comparados respecto a su registro basal.

También, se comprobaron los supuestos de normalidad (*Shapiro-Wilk*) y homocedasticidad (Prueba de *Levene*). Si estos supuestos no se cumplían, los datos eran transformados, ya que el ANOVA mixto no tiene ninguna equivalencia en las pruebas no paramétricas. El ANOVA mixto también debía de cumplir el supuesto de esfericidad (prueba de esfericidad de *Mauchly*, $p > 0.05$). En el caso de que este supuesto también fuera incumplido, el estadístico F era corregido mediante la corrección de *Greenhouse-Geisser*.

Como también se describió en métodos, se midió la potencia de ondas lentas o delta (por debajo de los 3 Hz); theta bajo [3-6 Hz] y theta alto [6-12 Hz]; beta [12-30 Hz]; gamma: bajo [30-60 Hz], medio [60-80 Hz] y alto [80-120 Hz] y HFO, entre los 120-200 Hz. Y se vio que, tras la administración de ambas dosis de ketamina, la actividad de ambas áreas experimentaba cambios a lo largo del tiempo.

En primer lugar, en HPCd se detectaron disminuciones de la potencia de las oscilaciones lentas de manera diferente a lo largo del registro (*tiempo*. 5 mg/kg: $F_{5,20} = 3.51$, $p < 0.05$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 4.60$, $p < 0.01$). Al administrar 5 mg/kg, se produjo en el primer clúster (0-10 min) una disminución que no alcanzó la significación estadística (*Dunnett test* $p > 0.05$; **Figura E-III.3a1**). La disminución producida por la dosis de 30 mg/kg si fue estadísticamente significativa desde los primeros 10 minutos y se extendió hasta los 60 minutos, abarcando todo el periodo del 2º clúster (*Dunnett test*. $p < 0.001$. **Figura E-III.3a2**).

La potencia de la SW en la vmPFC también descendió, pero solamente lo hizo tras la administración de la dosis alta (*tiempo*. 5 mg/kg: $F_{5,20} = 1.49$, $p > 0.05$; 30 mg/kg: $F_{8,24} = 3.54$, $p < 0.01$. **Figura E-III.3a3 y a4**). En concreto, la potencia descendió desde el inicio del registro y se mantuvo por debajo de los niveles del registro basal durante 40 minutos (1º y 2º clúster, $p < 0.01$; 3º clúster, $p < 0.05$. **Figura E-III.3a4**).

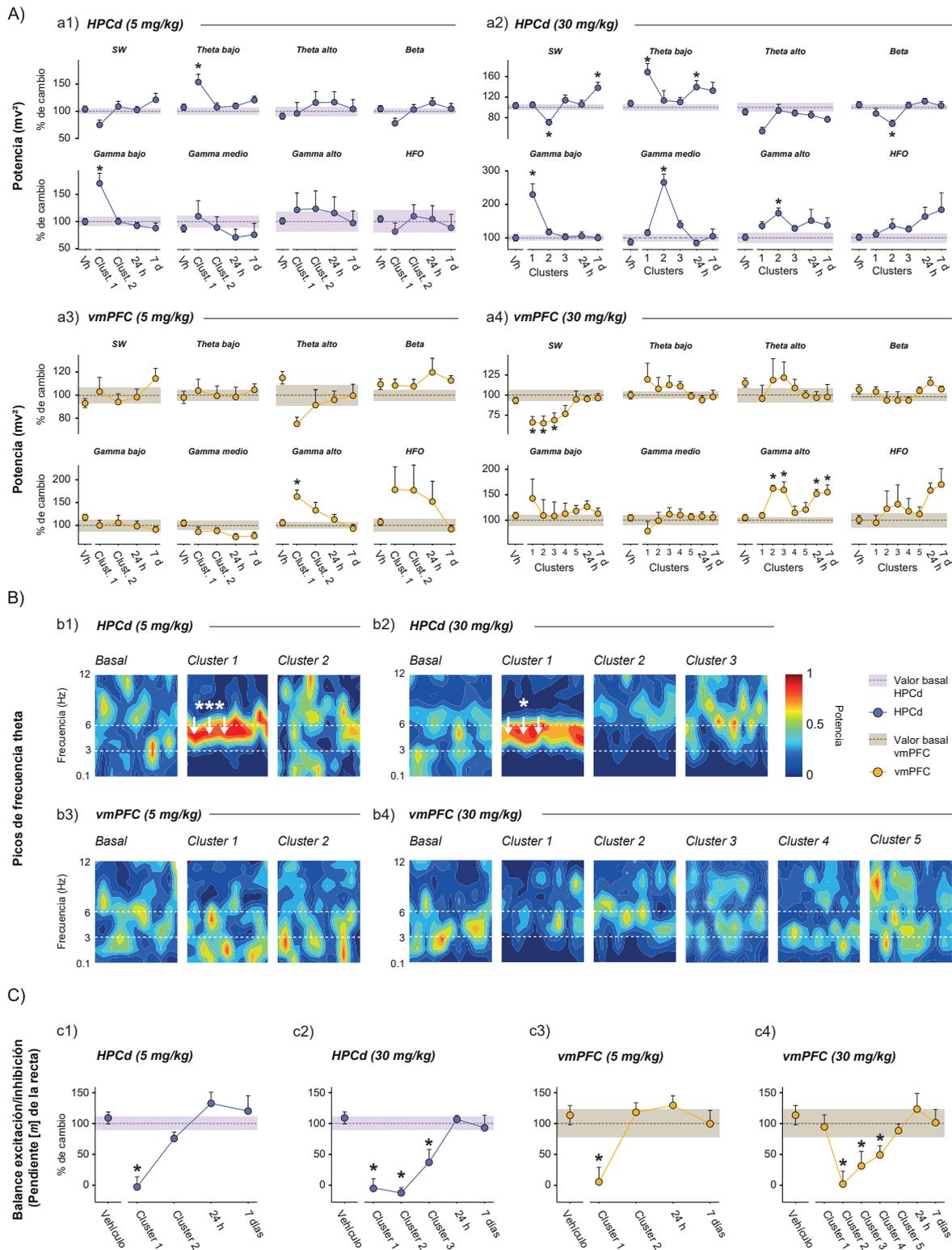


Fig. E-III.3: Potencia, frecuencia pico de la oscilación theta y balance excitación/inhibición de HPCd y vmPFC tras la administración de 5 y 30 mg/kg ketamina.A) Evolución de potencia de las diferentes frecuencias medidas en HPCd (a1 para el grupo de 5 mg/kg y a2 para el de 30 mg/kg) y vmPFC (a3 para el grupo de 5 mg/kg y a4 para el de 30 mg/kg) a través del porcentaje de cambio calculado a lo largo de los registros electrofisiológicos. El porcentaje de cambio fue promediado en diferentes rangos temporales según la longitud de los clúster definidos. (Continúa en la página siguiente).

Fig. E-III.3: (Continuación). Principalmente, los cambios se producen el mismo día de la administración de ketamina, aunque también pueden observarse algunos a las 24 horas y a los 7 días. **B)** Fragmentos de espectrogramas ilustrativos donde están representados los vectores de los espectros de potencia obtenidos en ventanas de 5 segundos. La potencia de sus valores de frecuencia se encuentra normalizada a través de la normalización de máximos y mínimos (Valor máximo de la potencia de todas las ventanas = 1. Valor mínimo = 0). En ellos se puede observar que, tras la administración de ketamina en el HPCd, se incrementan los valores rojizos (máximos de potencia) en la banda theta bajo. **C)** Evolución del balance excitación/inhibición en HPCd (**c1** para el grupo de 5 mg/kg y **c2** para el de 30 mg/kg) y vmPFC (**c3** para el grupo de 5 mg/kg y **c4** para el de 30 mg/kg). Principalmente, los cambios se producen tras la administración de ketamina y son más duraderos en el tiempo tras la administración de la dosis alta. Los puntos de los gráficos de líneas representan la media del porcentaje de cambio y las barras el + SEM (salvo en el caso del vehículo donde se representa la media \pm SEM). La línea discontinua y la sombra representan la media de los valores basales de esa variable y \pm SEM. *Dunnnett test.* *, $p < 0.05$, ***, $p < 0.001$.

La potencia de la banda theta, separada en theta bajo (3-6 Hz) y alto (6-12 Hz) para el análisis, también cambió tras la administración de la ketamina, pero solo en HPCd (*tiempo.* 5 mg/kg: $F_{5,20} = 6.36$, $p < 0.001$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 3.44$, $p < 0.05$). En concreto, se produjo un incremento de la potencia de la banda baja de theta durante los 10 primeros minutos tras la administración de ambas dosis (*Dunnnett test.* 5 y 30 mg/kg, $p < 0.001$). La potencia de las frecuencias altas de theta pareció disminuir en el primer clúster, pero solo como efecto de la dosis alta y sin llegar a consolidarse de manera significativa (*tiempo.* 30 mg/kg: $F_{6,18} = 1.68$, $p > 0.05$; *tiempo.* 5 mg/kg: $F_{5,20} = 0.74$, $p > 0.05$. **Figura E-III.3a1 y a2).**

A continuación, comprobamos que estos cambios en la magnitud de la potencia se debían principalmente a un desplazamiento de la frecuencia dominante de la banda theta (*tiempo.* 5 mg/kg: $F_{5,25} = 4.40$, $p < 0.01$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 2.48$, $p = 0.06$) hacia frecuencias bajas, durante el primer clúster (*Dunnnett test.* $p < 0.001$), que a partir de los 10 minutos vuelven al estado basal (*Dunnnett test.* $p > 0.05$. **Figura E-III.3b1 y b2).**

En vmPFC no se produjeron cambios en ninguna de estas dos bandas (*tiempo.* 5 mg/kg. Theta bajo: $F_{5,20} = 0.34$, $p > 0.05$; Theta alto: $F_{5,20} = 0.95$, $p > 0.05$. 30 mg/kg. Theta bajo: $F_{8,24} = 0.71$, $p > 0.05$; Theta alto: $F_{8,24} = 0.50$, $p > 0.05$. **Figura E-III.3a3 y a4)** y como cabría esperar, tampoco existió un desplazamiento en la frecuencia dominante (*tiempo.* 5 mg/kg: $F_{5,20} = 1.11$, $p > 0.05$; 30 mg/kg: $F_{8,24} = 0.92$, $p > 0.05$. **Figura E-III.3b3 y b4).**

La banda beta en HPCd, también sufrió un descenso de su potencia (*tiempo.* 5 mg/kg: $F_{5,20} = 3.64$, $p < 0.05$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 4.12$, $p < 0.01$. **Figura E-III.3a1 y a2)**, aunque con la dosis baja, esta disminución se produjo durante el 1^{er} clúster y no alcanzó la significación estadística (*Dunnnett test.* $p > 0.05$). Tras la administración dosis alta, se consolidó la disminución, pero no durante el 1^{er}, sino durante el 2^o (*Dunnnett test.* 1^{er} clúster: $p > 0.05$; 2^o clúster: $p < 0.001$). En vmPFC, no se observaron alteraciones de esta frecuencia (*tiempo.* 5 mg/kg: $F_{5,20} = 0.59$, $p > 0.05$; 30 mg/kg: $F_{8,24} = 2.29$, $p > 0.05$. **Figura E-III.3a3 y a4).**

Los perfiles obtenidos en la potencia de las frecuencias gamma (> 30 Hz, que fueron subdivididas en gamma bajo, medio, alto y HFO) también fueron diferentes según la dosis y el área estudiada.

En concreto, en HPCd la administración de ketamina afectó a un espectro mayor de frecuencias gamma que en vmPFC, siendo todos aumentos. Las bandas incrementadas fueron las comprendidas entre el gamma bajo (*tiempo.* 30-60 Hz. 5 mg/kg: $F_{5,20} = 12.19$, $p < 0.001$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 3.13$, $p < 0.05$), medio (*tiempo.* 60-80 Hz. 5 mg/kg: $F_{5,20} = 2.46$, $p > 0.05$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 6.82$, $p < 0.001$) y el alto (*tiempo.* 80-120 Hz. 5 mg/kg: $F_{5,20} = 0.409$, $p > 0.05$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 2.56$, $p = 0.05$), pero el aumento de potencia de estas dos últimas oscilaciones solamente se produjo tras la administración de la dosis alta. La potencia de las HFO (<120

Hz), no mostró cambios tras la administración de ninguna de las dos dosis (*tiempo*. 5 mg/kg: $F_{5,20} = 0.88$, $p > 0.05$; 30 mg/kg: $F_{6,18} = 2.56$, $p > 0.05$. **Figura E-III.3a1 y a2**).

La potencia del gamma bajo aumentó inmediatamente después de la administración y lo hizo con ambas dosis durante los primeros 10 minutos (*Dunnett test*. 1^{er} clúster, $p < 0.001$). Tras este aumento, la potencia del gamma bajo volvió a los niveles basales durante el 2^o clúster (*Dunnett test*. $p > 0.05$) en ambos grupos. Sin embargo, en el 2^o clúster del grupo que había recibido la dosis alta (10-60 min), se registraron incrementos en el gamma medio (*Dunnett test*. $p < 0.001$) y el alto (*Dunnett test*. $p < 0.01$). Es decir, el primero aumenta es el gamma bajo y posteriormente el medio y el alto (**Figura E-III.3a1 y a2**).

En vmPFC, las dos dosis de ketamina produjeron aumentos solo de la potencia de las frecuencias gamma más altas (*tiempo*. 5 mg/kg: $F_{5,20} = 5.72$, $p < 0.01$; 30 mg/kg: $F_{8,24} = 6.76$, $p < 0.01$), siendo el efecto más duradero tras la administración de la dosis alta. Al administrar 5 mg/kg solo se observó este incremento durante el primer clúster (*Dunnett test*. 1^{er} clúster, $p < 0.001$), pero también durante el 2^o y el 3^{er} al inyectar 30 mg/kg (*Dunnett test*. $p < 0.001$).

Es importante señalar dos aspectos en las potencias gamma de vmPFC: a pesar de no alcanzar la significación estadística, el gamma bajo también aumentó durante los primeros 10 minutos (*Dunnett test*. $p > 0.05$), al administrar la dosis alta; así mismo, la dosis baja, también parecía aumentar las HFO de manera inmediata y duradera, sin embargo, el cambio tampoco fue significativo (*Dunnett test*. $p > 0.05$. **Figura E-III.3a3 y a4**).

Por lo tanto, es posible que tal vez produjera un perfil similar al descrito en HPCd: un aumento inicial del gamma más bajo y a continuación de rangos más altos, aunque sea de menor magnitud y, por ello, no da lugar a diferencias estadísticamente significativas.

Los cambios en el resto de las frecuencias no alcanzaron la significación estadística (*tiempo*. 5 mg/kg: gamma bajo, $F_{5,20} = 1.28$, $p > 0.05$; gamma medio, $F_{5,20} = 3.54$, $p < 0.05$; y HFO, $F_{5,20} = 2.06$, $p > 0.05$. 30 mg/kg: gamma bajo, $F_{8,24} = 0.37$, $p > 0.05$; gamma medio, $F_{8,24} = 1.74$, $p > 0.05$; y HFO, $F_{5,20} = 1.294$, $p > 0.05$. **Figura E-III.3a3 y a4**).

Aunque la mayoría de los efectos se produjeron durante la primera hora tras la administración de ketamina, también se observaron diferencias relevantes a las 24 horas e incluso una semana después. El theta bajo aumentó 24 horas después de la administración, pero solamente en HPCd y en el grupo que había recibido la dosis alta (*Dunnett test*. $p < 0.05$. **Figura E-III.3a2**). En vmPFC, la potencia del gamma alto, también se mostró incrementada al día siguiente por efecto solo de la dosis alta (*Dunnett test*., $p < 0.01$) y también a la semana (*Dunnett test*. $p < 0.001$. **Figura E-III.3a4**). A los 7 días tras la administración, la potencia de la SW en HPCd era superior a los niveles basales en ambos grupos experimentales, pero solo de manera significativa en los animales que habían recibido 30 mg/kg. (*Dunnett test*. 30 mg/kg, $p < 0.001$; 5 mg/kg, $p = 0.08$. **Figura E-III.3a1 y a2**).

Los resultados anteriores indican que los cambios en la potencia de las oscilaciones son dependientes de la dosis y del área estudiada, produciéndose los de mayor magnitud y afectando a más frecuencias en el HPCd, tras la administración de la dosis alta. De manera resumida, en ambas áreas consistirían en aumentos de gamma, disminución de oscilaciones más lentas y modificaciones del theta, aunque esta última solo en HPCd. Además, esta dosis también generaría el aumento de la potencia de algunas oscilaciones 24 horas y 7 días después de la administración.

El balance excitación/inhibición del HPCd y de vmPFC se ven afectados por la administración de ketamina de manera particular según la estructura y la dosis de ketamina administrada

A través de la pendiente de la recta obtenida (tras un ajuste de regresión lineal simple) de los valores de potencia situados entre los 30 y 46 Hz del espectro de potencia fue posible medir el balance entre la excitación y la inhibición neuronal. Los resultados mostraron un incremento de la excitación neuronal tras la administración de ketamina y más prolongado cuanto mayor era concentración de la dosis. Sin embargo, en todos los casos, los efectos de la ketamina sobre este balance solamente se limitaron al día de su administración (**Figura E-III.3C**).

En concreto, la dosis de 5 mg/kg, provocó una excitación durante los primeros 10 minutos (*Dunnnett test*. 1^{er} clúster. HPCd, $p < 0.001$; vmPFC, $p < 0.01$) en ambas áreas (*tiempo*. HPCd: $F_{5,25} = 13.84$, $p < 0.001$; vmPFC: $F_{5,20} = 4.58$, $p < 0.01$. **Figura E-III.3c1 y c3**). La dosis de 30 mg/kg mantuvo el desbalance hacia la excitación durante todo el registro en el caso de HPCd (*tiempo*. $F_{6,18} = 9.11$, $p < 0.001$. *Dunnnett test*. 1^{er} y 2^o clúster, $p < 0.001$; 3^{er} clúster, $p < 0.01$. **Figura E-III.3c2**). En vmPFC (*tiempo*. $F_{8,24} = 3.14$, $p < 0.05$), con la dosis alta, la excitación se inició a partir de los 10 primeros minutos (*Dunnnett test*. 1^{er} clúster, $p > 0.05$) y se mantuvo en valores menores del registro basal hasta los 40 minutos (*Dunnnett test*. 2^o clúster, $p < 0.01$; 3^{er} clúster, $p < 0.05$. **Figura E-III.3c4**), volviendo a niveles equivalentes a los basales hasta el final del registro.

Estos resultados, indican que el efecto de excitación neuronal de la ketamina es más prolongado en el HPCd que en la vmPFC. Este efecto también es dependiente de la dosis, dando lugar a un efecto de mayor intensidad en la dosis elevada.

La ketamina aumenta el acoplamiento fase-amplitud inmediatamente después de su administración, tanto en vmPFC como en HPCd, pero de manera diferente según la estructura y la dosis empleada

La administración de ketamina también alteró el acoplamiento entre oscilaciones de frecuencia de manera particular según la dosis administrada y el área estudiada. Estos efectos también se evaluaron calculando el porcentaje de cambio y se utilizaron como tiempos de referencias los indicados por el estudio de clústers de la manera que se ha explicado en secciones anteriores. Este estudio se abordó analizando el acoplamiento de la amplitud de las frecuencias rápidas, gamma de 30 a 200Hz con una resolución de 5Hz (obteniendo así un total de 408 rangos) a la fase de las lentas, en concreto el rango de 0.1 a 12 Hz con una resolución de 1 Hz (por tanto 12 niveles). Los resultados obtenidos se representan en comodulogramas.

Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante un ANOVA mixto, con un único factor, el tiempo, de manera que se compararon cada uno de los rangos de frecuencia a los largo de los clústers. Además, para facilitar la interpretación de los resultados, los comodulogramas (**Figura E-III.4A y B**; la **Figura E-III.5**; y la **Figura E-III.6**) fueron divididos en 9 territorios de comodulación (cuadrados formados por las líneas negras discontinuas de **Figura E-III.4A y B**; la **Figura E-III.5**; y la **Figura E-III.6**) en función de la frecuencia de la fase (0.1-3 Hz para la SW, 3-6 Hz para el theta bajo y 6-12 Hz para el theta alto) y la frecuencia de la amplitud medida (30-60 Hz gamma bajo, 60-80 Hz gamma medio, 80-120 Hz gamma alto y 120-200 Hz las HFO). Fue sobre esta misma representación sobre la que se indicaron mediante cuadrados blancos los rangos de comodulación en los que se habían experimentado variaciones con significación estadística y mediante puntos de color blanco aquellos en los que

las pruebas *post hoc* (test de *Dunnett*) alcanzaron la significación.

En primer lugar, los registros basales de cada estructura estudiada fueron diferentes, reflejando estados iniciales distintos en cada región. HPCd se caracterizó por tener los acoplamientos máximos en las frecuencias más bajas de la SW (0.1-3 Hz) con las frecuencias gamma bajas y medias (30-80 Hz). Además, en HPCd también se observó acoplamiento de las distintas frecuencias gamma a frecuencias theta bajas/altas comprendidas entre los 3-8 Hz, aunque de mayor magnitud (**Figura E-III.4A** y la **Figura E-III.5**, comodulograma basal).

En vmPFC, también se pusieron de manifiesto máximos de acoplamiento en las frecuencias más bajas de la SW con las frecuencias gamma bajas y medias (30-80 Hz). Sin embargo, a diferencia del área dorsal de HPC, los máximos de comodulación se situaron entre los 6-12 Hz y el gamma medio, alto y las HFO (60-200 Hz). También se observaron valores alto de acoplamiento en las frecuencias del theta bajo (3-6 Hz) con el gamma medio y alto (**Figura E-III.4B** y la **Figura E-III.6**, comodulograma basal).

Como era de esperar, la administración del vehículo donde era diluida la ketamina no produjo cambios en el perfil de comodulación (**Figura E-III.4 A y B**; la **Figura E-III.5**; y la **Figura E-III.6**, comodulograma vehículo) y los cambios en la comodulación se produjeron tras la administración de ketamina, de manera más relevante durante los primeros 10 minutos (*Dunnett* test, $p > 0.05$) y excepcionalmente en algun caso, se prolongaron más allá.

Tras la administración de 5 mg/kg de ketamina, en HPCd el ANOVA mixto alcanzó la significación estadística en diferentes rangos de frecuencia. Concretamente, entre las frecuencias SW y los gammas bajo, medio y alto (*tiempo*. **0.1-1 Hz** con 120-125 Hz, $F_{5,20} = 2.68$, $p = 0.05$; con 125-130 Hz, $F_{5,20} = 2.85$, $p < 0.05$; con 130-135 Hz, $F_{5,20} = 2.48$, $p = 0.05$; y con 135-140 Hz, $F_{5,20} = 2.51$, $p = 0.06$. **1-2 Hz** con 65-70 Hz, $F_{5,20} = 2.83$, $p < 0.05$. **2-3 Hz** con 30-35 Hz, $F_{5,20} = 2.94$, $p < 0.05$; con 60-65 Hz, $F_{5,20} = 2.51$, $p = 0.06$; con 65-70 Hz, $F_{5,20} = 6.07$, $p < 0.01$; con 70-75 Hz, $F_{5,20} = 3.69$, $p < 0.05$) las frecuencias theta bajo y los gamma medio y HFO (*tiempo*. **3-4 Hz** con 60-65 Hz, $F_{5,20} = 3.63$, $p < 0.05$; y con 65-70 Hz, $F_{5,20} = 3.44$, $p < 0.05$; y con 190-195 Hz, $F_{5,20} = 3.34$, $p < 0.05$. **4-5 Hz** con 175-180 Hz, $F_{5,20} = 3.02$, $p < 0.05$; con 180-185 Hz, $F_{5,20} = 4.95$, $p < 0.01$; 185-190 Hz, $F_{5,20} = 6.02$, $p < 0.01$; 190-195 Hz, $F_{5,20} = 7.40$, $p < 0.001$. **5-6 Hz** con 170-175 Hz, $F_{5,20} = 2.93$, $p < 0.05$; con 175-180 Hz, $F_{5,20} = 2.67$, $p = 0.05$; con 180-185 Hz, $F_{5,20} = 2.56$, $p = 0.06$; 185-190 Hz, $F_{5,20} = 3.16$, $p < 0.05$; 190-195 Hz, $F_{5,20} = 3.98$, $p < 0.05$) y el theta alto y los gammas bajos, medios y HFO (*tiempo*. 6-7 Hz con 175-180 Hz, $F_{5,20} = 3,586$, $p < 0.05$; 185-190 Hz, $F_{5,20} = 3,051$, $p < 0.05$; 190-195 Hz, $F_{5,20} = 2,536$, $p = 0.05$. **7-8 Hz** con 170-175 Hz, $F_{5,20} = 2.82$, $p < 0.05$; y con 175-180 Hz, $F_{5,20} = 2.81$, $p < 0.05$. **8-9 Hz** con 90-95 Hz, $F_{5,20} = 5.49$, $p < 0.01$. **9-10 Hz** con 50-55 Hz, $F_{5,20} = 8.89$, $p < 0.001$. [**Figura E-III.4A**, cuadros de color blanco]). El resto de frecuencias no mostraron cambios en el acoplamiento y sus valores estadísticos están reflejados en la **Tabla Suplementaria Supl. 1**.

Por un lado, se pudieron observar visualmente disminuciones en 3-4 Hz con gamma medio, pero a pesar de que el ANOVA para este rango había sido significativo, pero el análisis *post hoc* no confirmaron esta disminución (60-65 Hz y 65-70 Hz: *Dunnett* test, $p > 0.05$). Se confirmaron, por otro lado, aumentos en la regiones del theta bajo y alto con las HFO pero no todos los rangos de frecuencias, aunque mostraron cambios en el ANOVA, alcanzaron la significación estadística en el *post hoc* (**Figura E-III.4A**, *Dunnett* test, $p < 0.05$ para los cuadros blancos con puntos del clúster 1).

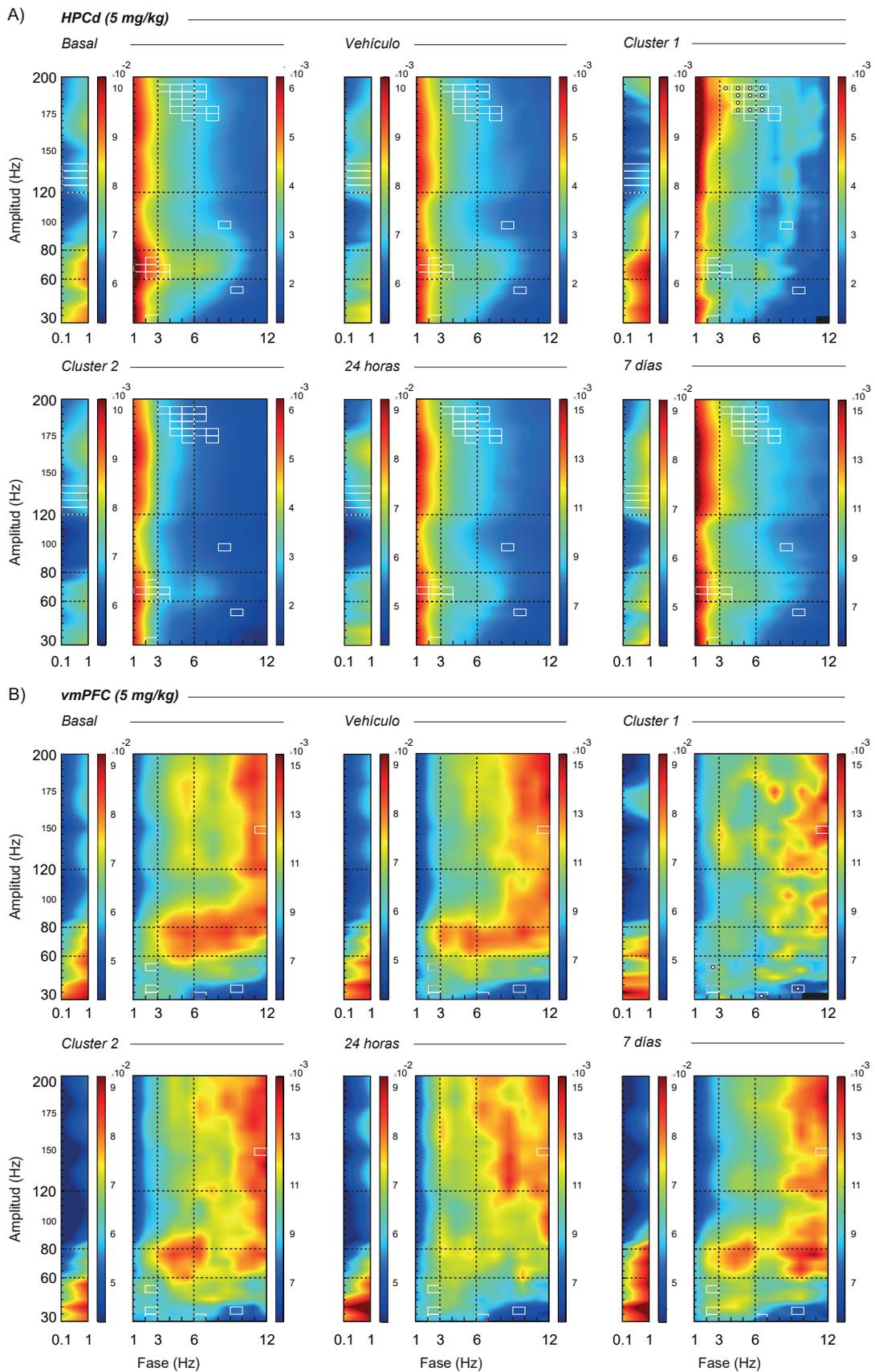


Fig. E-III.4: Comodulación intra-estructuras en HPCd y vmPFC (5 mg/kg). (Continúa en la página siguiente)

Fig. E-III.4: (Continuación). La comodulación entre la SW y theta (0.1 – 12 Hz) y las oscilaciones gamma (30-200 Hz) está representada a través de comodulogramas. Cada comodulograma está formado por un total de 408 rangos de frecuencia, es decir, la comodulación fue calculada para cada uno de los intervalos de 1 Hz en los que esta divide la fase (12 intervalos, desde 0.1 hasta los 12 Hz) con los intervalos de 5 Hz en los que separó la oscilación gamma (34 intervalos, desde los 30 hasta los 200 Hz). Cada uno de los rangos de frecuencias muestra el promedio de ese rango de todos los animales del grupo, en sus respectivos días. Los colores indican el valor de la comodulación estando representados en colores rojizos aquellos valores más altos y en azul los más bajos. **A)** El HPCd mostró cambios en el acoplamiento fase-amplitud en múltiples frecuencias gamma, siendo aumentos significativos (en las pruebas *post hoc*) aquellos situados en las frecuencias HFO (170 – 195 Hz) y el theta (3 – 8 Hz). **B)** La vmPFC mostró pocos cambios en el acoplamiento fase-amplitud, siendo todos estos, disminuciones. Estas disminuciones fueron significativas únicamente (en las pruebas *post hoc*) en las frecuencia gamma bajo (entre 30 y 40 y los 50-55 Hz) y el theta (1-2, 6-7 y 9-10 Hz). Cada rango de frecuencias fue comparado mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto (*tiempo*). Los cuadrados blancos muestran aquellas regiones en las cuales el factor *tiempo* del ANOVA mixto mostró significación o tendencia estadística ($p \leq 0.06$). Los valores estadísticos pueden consultarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 1** y en la **Tabla Suplementaria Supl. 2**. El punto blanco en su interior indica significación estadística ($p < 0.05$) en la prueba *post hoc*, el test de *Dunnnett*.

Además, a pesar de que a nivel visual, en los el comodulograma del primer clúster aumentó los colores rojizos en las frecuencias situadas entre los 0.1 y 1 Hz (**Figura E-III.4A**; clúster 1, panel izquierdo) y las frecuencias situadas en el gamma bajo, medio y alto, a la vez que disminuían los acoplamientos con las HFO, ninguno de estos cambios fueron significativos (*Dunnnett* test, $p > 0.05$). El resto de frecuencias de la SW (1-3 Hz, **Figura E-III.4A**; clúster 1, panel derecho) y gamma tampoco variaron (*Dunnnett* test, $p > 0.05$).

La misma dosis, también alteró el acoplamiento fase-amplitud en vmPFC; sin embargo, lo hizo en un número de rangos menor que en HPCd. El ANOVA mixto solamente alcanzó la significación en algunas regiones de la SW con el gamma bajo (*tiempo*. **2-3 Hz** con 30-35 Hz, $F_{15,20} = 4.05$, $p < 0.05$; con 35-40 Hz, $F_{15,20} = 3.44$, $p < 0.05$; y con 50-55 Hz, $F_{15,20} = 3.21$, $p < 0.05$) y el theta alto con el gamma bajo (*tiempo*. **6-7 Hz** con 30-35 Hz, $F_{15,20} = 2.90$, $p < 0.05$. **9-10 Hz** con 35-40 Hz, $F_{15,20} = 3.04$, $p < 0.05$) y las HFO (*tiempo*. **11-12 Hz** con 140-145 Hz, $F_{15,20} = 2.94$, $p < 0.05$. **Figura E-III.4B**, cuadros blancos). El resto de comparaciones estadísticas pueden consultarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 2**.

De manera general, el acoplamiento durante este periodo de tiempo parece disminuir, sobre todo en los territorios de ambas divisiones theta con el gamma medio, alto y bajo, pero también en los territorios de la SW (1-3 Hz) y el gamma bajo y medio (disminución de los colores rojizos y aumento de los colores amarillentos/verdosos en algunas regiones). Sin embargo, la disminución de los acoplamientos solamente se pudo confirmar en los rangos de los 2-3 Hz con 50-55 Hz, los 6-7 Hz con 30-35 Hz y los 9-10 Hz con 35-40 Hz (*Dunnnett* test, $p < 0.05$. **Figura E-III.4B**, clúster 1, cuadrados blancos con puntos).

Estos resultados indican cambios tanto en HPCd como en vmPFC pero solo durante los primeros 10 minutos tras la administración de ketamina. No se observan cambios en ninguno de los otros días de registro, es decir, se trata de un efecto breve. Por otro lado, el efecto en HPCd es mayor ya que, a diferencia de lo ocurrido en vmPFC, en esta región los cambios en la comodulación abarcan mayores rangos de frecuencias.

Los animales que habían recibido 30 mg/kg experimentaron cambios del acoplamiento que afectaron a un rango más amplio de regiones que el grupo que había recibido la dosis baja. En concreto, el acoplamiento en el HPCd volvió a cambiar en todos los rangos de la de las oscilaciones que proporcionaban la fase (SW, theta bajo y alto) y el todas las frecuencias gamma (*tiempo*. **0.1-1 Hz** con 30-35 Hz, $F_{6,24} = 2.39$, $p = 0.05$; con 35-40 Hz, $F_{6,24} = 2.91$, $p < 0.05$; con 40-45 Hz, $F_{6,24} = 2.77$, $p < 0.05$; con 45-50 Hz, $F_{6,24} = 4.21$, $p < 0.01$; y con

55-60 Hz, $F_{6,24} = 4.16$, $p < 0.01$; con 125-130 Hz, $F_{6,24} = 2.90$, $p < 0.05$; y con 130-135 Hz, $F_{6,24} = 2.51$, $p < 0.05$. **1-2 Hz** con 65-70 Hz, $F_{6,24} = 3.39$, $p < 0.05$. **2-3 Hz** con 60-65 Hz, $F_{6,24} = 3.5$, $p < 0.05$; con 65-70 Hz, $F_{6,24} = 10.22$, $p < 0.001$; con 70-75 Hz, $F_{6,24} = 3.92$, $p < 0.01$; y con 100-105 Hz, $F_{6,24} = 2.51$, $p < 0.05$. **3-4 Hz** con 30-35 Hz, $F_{6,24} = 2.62$, $p < 0.05$; con 60-65 Hz, $F_{6,24} = 10.89$, $p < 0.001$; con 65-70 Hz, $F_{6,24} = 4.94$, $p < 0.01$; con 70-75 Hz, $F_{6,24} = 5.04$, $p < 0.01$; con 75-80 Hz, $F_{6,24} = 3.53$, $p < 0.05$; con 190-195 Hz, $F_{6,24} = 3.55$, $p < 0.05$; y con 195-200 Hz, $F_{6,24} = 4.82$, $p < 0.01$. **4-5 Hz** con 60-65 Hz, $F_{6,24} = 2.33$, $p = 0.05$; con 65-70 Hz, $F_{6,24} = 3.50$, $p < 0.05$; con 70-75 Hz, $F_{6,24} = 4.70$, $p < 0.01$; con 75-80 Hz, $F_{6,24} = 3.03$, $p < 0.05$; con 170-175 Hz, $F_{6,24} = 7.83$, $p < 0.001$; con 175-180 Hz, $F_{6,24} = 15.59$, $p < 0.001$; y con 180-185 Hz, $F_{6,24} = 7.19$, $p < 0.001$. **5-6 Hz** con 70-75 Hz, $F_{6,24} = 4.57$, $p < 0.01$; con 75-80 Hz, $F_{6,24} = 4.55$, $p < 0.01$; con 80-85 Hz, $F_{6,24} = 3.65$, $p < 0.05$; con 85-90 Hz, $F_{6,24} = 3.63$, $p < 0.05$; con 170-175 Hz, $F_{6,24} = 8.09$, $p < 0.001$; con 175-180 Hz, $F_{6,24} = 8.44$, $p < 0.001$; con 180-185 Hz, $F_{6,24} = 7.74$, $p < 0.001$. **6-7 Hz** con 35-40 Hz, $F_{6,24} = 2.61$, $p < 0.05$; con 70-75 Hz, $F_{6,24} = 2.73$, $p < 0.05$; con 75-80 Hz, $F_{6,24} = 3.44$, $p < 0.05$; con 85-90 Hz, $F_{6,24} = 2.93$, $p < 0.05$; con 90-95 Hz, $F_{6,24} = 2.29$, $p = 0.05$; con 170-175 Hz, $F_{6,24} = 3.69$, $p < 0.05$; con 180-185 Hz, $F_{6,24} = 2.72$, $p < 0.05$; con 185-190 Hz, $F_{6,24} = 2.59$, $p < 0.05$; con 190-195 Hz, $F_{6,24} = 3.18$, $p < 0.05$; y con 195-200 Hz, $F_{6,24} = 2.91$, $p < 0.05$. **7-8 Hz** con 70-75 Hz, $F_{6,24} = 2.62$, $p < 0.05$; con 85-90 Hz, $F_{6,24} = 2.77$, $p < 0.05$; con 90-95 Hz, $F_{6,24} = 2.28$, $p = 0.05$; con 95-100 Hz, $F_{6,24} = 4.59$, $p < 0.01$; y con 100-105 Hz, $F_{6,24} = 4.27$, $p < 0.01$. **8-9 Hz** con 175-180 Hz, $F_{6,24} = 2.63$, $p < 0.05$; con 180-185 Hz, $F_{6,24} = 2.39$, $p = 0.05$; con 185-190 Hz, $F_{6,24} = 3.94$, $p < 0.01$; con 190-195 Hz, $F_{6,24} = 4.59$, $p < 0.01$; y con 195-200 Hz, $F_{6,24} = 2.78$, $p < 0.05$. **10-11 Hz** con 185-190 Hz, $F_{6,24} = 3.27$, $p < 0.05$. **11-12 Hz** con 65-70 Hz, $F_{6,18} = 3.29$, $p < 0.05$; y con 180-185 Hz, $F_{6,24} = 2.93$, $p < 0.05$. **Figura E-III.5**, cuadros blancos). El resto de comparaciones estadísticas pueden consultarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 3**.

Durante el primer clúster la comodulación entre la SW y el gamma tuvo un perfil diferente según la frecuencia de la SW en la que ocurrieran los cambios. El acoplamiento aumentó entre las frecuencias más bajas de la SW (0.1-1 Hz), concretamente en el gamma bajo (*Dunnnett test*, $p < 0.05$), consolidándose los cambios observados, de manera visual, en la dosis de 5 mg/kg en estas frecuencias. Además, la comodulación disminuyó, de manera generalizada en los 1-3 Hz y todo el rango gamma. Sin embargo, estas disminuciones solamente se confirmaron en algunas frecuencias del gamma medio y alto (*Dunnnett test*, $p < 0.05$. **Figura E-III.5**, clúster1, cuadros blancos con puntos).

También durante el 1^{er} clúster, a partir de los 3 Hz, y al parecer en todo el rango theta, el acoplamiento aumentó con todas las frecuencias gamma de manera generalizada, pero especialmente con las frecuencias gamma medias, altas y HFO (**Figura E-III.5**, clúster 1). Sin embargo, los incrementos solamente se confirmaron durante el 1^{er} clúster y en el theta bajo (*Dunnnett test* $p < 0.05$ para: 3-4 Hz con 60-65 Hz; con 65-70 Hz; con 70-75 Hz; con 75-80 Hz; con 190-195 Hz; y con 195-200 Hz. 4-5 Hz con 60-65 Hz; con 65-70 Hz; con 75-80 Hz; con 170-175 Hz; con 175-180 Hz; y con 180-185 Hz. 5-6 Hz con 185-190 Hz; con 190-195 Hz; y con 195-200 Hz) y en la primera frecuencia del theta alto (*Dunnnett test* $p < 0.05$ para: 6-7 Hz con 35-40 Hz; con 170-175 Hz; con 185-190 Hz; con 190-195 Hz; y con 195-200 Hz. **Figura E-III.5** clúster 1, cuadros blancos con puntos).

Además, el acoplamiento entre las frecuencias theta y HFO pareció mantenerse durante el 2^o clúster, e incluso a las 24 horas y los 7 días. Este incremento mantenido, también pareció darse entre las frecuencias theta bajas y altas y el gamma medio. Sin embargo, el test de *Dunnnett* no pudo confirmar este aumento en ninguno de los casos ($p > 0.05$. **Figura E-III.5**).

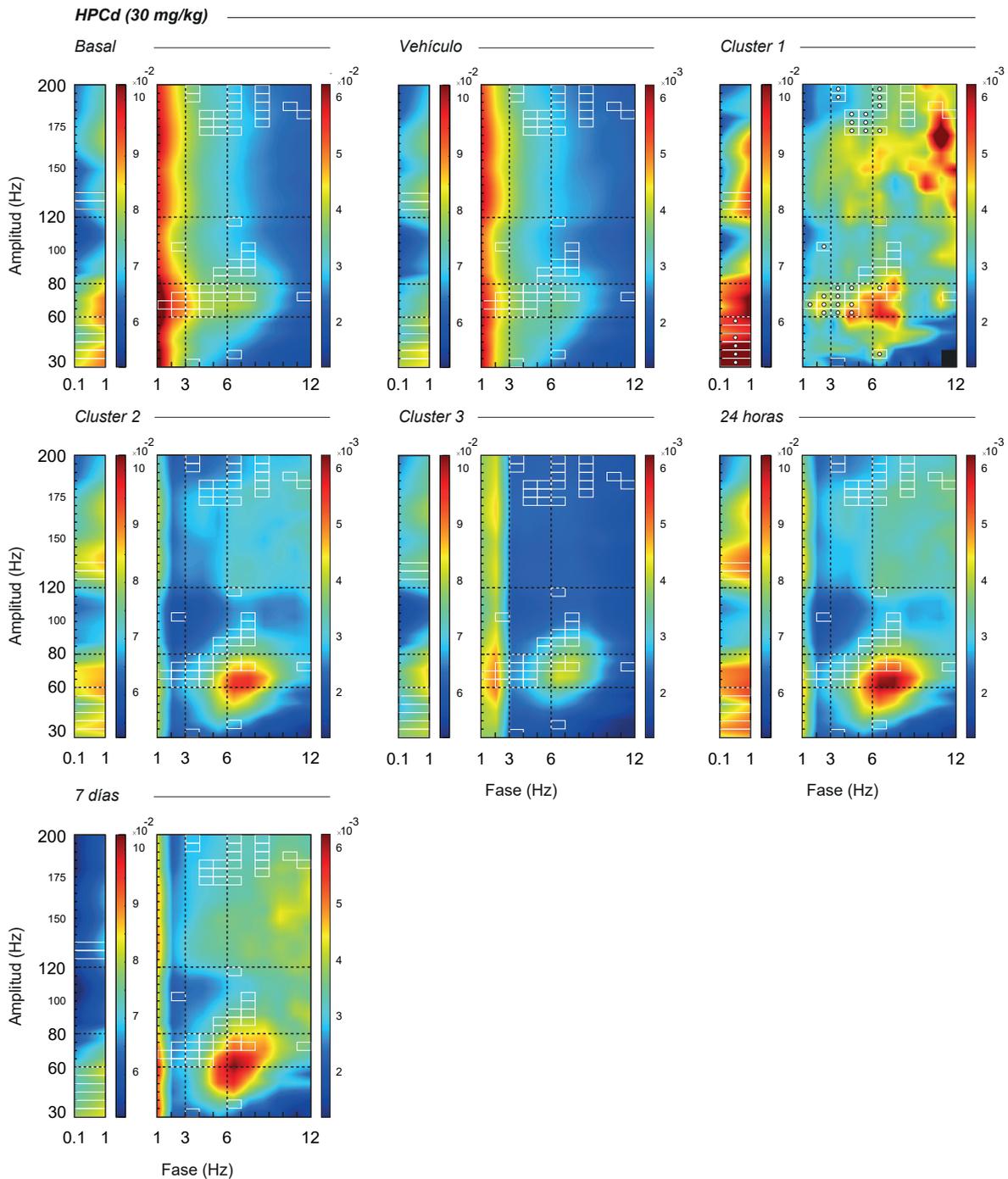


Fig. E-III.5: Comodulación intra-estructuras de HPCd (30 mg/kg). La comodulación entre la SW y theta (0.1 – 12 Hz) y las oscilaciones gamma (30-200 Hz) está representada a través de comodulogramas. Cada comodulograma está formado por un total de 408 rangos de frecuencia, es decir, la comodulación fue calculada para cada uno de los intervalos de 1 Hz en los que está dividida la fase (12 intervalos, desde 0.1 hasta los 12 Hz) con los intervalos de 5 Hz en los que separó la oscilación gamma (34 intervalos, desde los 30 hasta los 200 Hz). Cada uno de los rangos de frecuencias muestra el promedio de ese rango de todos los animales del grupo, en sus respectivos días. Los colores indican el valor de la comodulación estando representados en colores rojizos aquellos valores más altos y en azul los más bajos. Tras la administración de 30 mg/kg de ketamina, el HPCd mostró más cambios en el acoplamiento que la dosis de 5 mg/kg. En las frecuencias SW aumentó el acoplamiento en el rango más bajo (0.1-1 Hz) con el gamma bajo, mientras que el producido por las frecuencias 1-2 y 2-3 Hz disminuyó de manera generalizada. **(Continúa en la página siguiente).**

Fig. E-III.5: (Continuación). El acoplamiento theta con las frecuencias gamma aumentó en bastantes regiones, sin embargo, los cambios significativos (en las pruebas *post hoc*) se dieron principalmente en las frecuencias del theta bajo (3-6 Hz) y el gamma medio/HFO; y el primer intervalo de frecuencias del theta alto (6-7 Hz). Cada rango de frecuencias fue comparado mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto (*tiempo*). Los cuadrados blancos muestran aquellas regiones en las cuales el factor tiempo del ANOVA mixto mostró significación o tendencia estadística ($p \leq 0.06$). Los valores estadísticos pueden consultarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 3**). El punto blanco en su interior indica significación estadística ($p < 0.05$) en la prueba *post hoc*, el test de *Dunnnett*.

Con respecto a vmPFC, en este caso la administración de la dosis alta de ketamina produjo aumentos del acoplamiento en una gran cantidad de oscilaciones. El acoplamiento de las frecuencias SW aumentó de manera generalizada (*tiempo*. **0.1-1 Hz** con 80-85 Hz, $F_{8,32} = 2.66$, $p < 0.05$; con 85-90 Hz, $F_{8,32} = 3.14$, $p < 0.05$; con 90-95 Hz, $F_{8,32} = 2.35$, $p < 0.05$; y con 95-100 Hz; $F_{8,32} = 2.22$, $p = 0.05$. **1-2 Hz** con 120-125 Hz, $F_{8,32} = 2.71$, $p < 0.05$; y con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 2.55$, $p < 0.05$. **2-3 Hz** con 115-120 Hz, $F_{8,32} = 2.35$, $p < 0.05$; con 120-125 Hz, $F_{8,32} = 2.64$, $p < 0.05$; con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 2.55$, $p < 0.05$; con 130-135 Hz, $F_{8,32} = 2.13$, $p = 0.05$), al igual que lo hizo el acoplamiento theta/gamma (*tiempo*. **3-4 Hz** con 40-45 Hz, $F_{8,32} = 2.51$, $p < 0.05$; con 110-115 Hz, $F_{8,32} = 2.74$, $p < 0.05$; con 115-120 Hz, $F_{8,32} = 3.43$, $p < 0.01$; con 120-125 Hz, $F_{8,32} = 3.93$, $p < 0.01$; con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 4.51$, $p < 0.001$; con 130-135 Hz, $F_{8,32} = 4.30$, $p < 0.01$; con 135-140 Hz, $F_{8,32} = 4.17$, $p < 0.01$; con 140-145 Hz, $F_{8,32} = 4.25$, $p < 0.01$; con 145-150 Hz, $F_{8,32} = 2.80$, $p < 0.05$; y con 150-155 Hz, $F_{8,32} = 2.86$, $p < 0.05$. **4-5 Hz** con 40-45 Hz, $F_{8,24} = 2.22$, $p < 0.05$; con 45-50 Hz, $F_{8,24} = 3.45$, $p < 0.01$; con 90-95 Hz; $F_{8,32} = 2.76$, $p < 0.05$; con 95-100 Hz, $F_{8,24} = 2.10$, $p = 0.05$; con 110-115 Hz, $F_{8,32} = 2.9$, $p < 0.05$; con 115-120 Hz, $F_{8,32} = 4.28$, $p < 0.01$; con 120-125 Hz, $F_{8,32} = 4.94$, $p < 0.001$; con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 4.38$, $p < 0.01$; con 130-135 Hz, $F_{8,32} = 4.82$, $p < 0.001$; con 135-140 Hz, $F_{8,32} = 4.04$, $p < 0.01$; con 140-145 Hz, $F_{8,32} = 4.06$, $p < 0.01$; y con 145-150 Hz, $F_{8,32} = 3.03$, $p < 0.05$. **5-6 Hz** con 35-40 Hz, $F_{8,24} = 3.51$, $p < 0.001$; con 40-45 Hz, $F_{8,24} = 3.31$, $p < 0.05$; con 45-50 Hz, $F_{8,24} = 2.44$, $p < 0.05$; con 95-100, $F_{8,32} = 2.88$, $p < 0.05$; con 100-105 Hz, $F_{8,32} = 2.94$, $p < 0.05$; con 105-110 Hz, $F_{8,24} = 3.27$, $p < 0.05$; con 110-115 Hz, $F_{8,32} = 4.51$, $p < 0.001$; con 115-120 Hz, $F_{8,32} = 5.26$, $p < 0.001$; con 120-125 Hz, $F_{8,32} = 5.79$, $p < 0.001$; con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 3.98$, $p < 0.01$; con 130-135 Hz, $F_{8,32} = 4.07$, $p < 0.01$; con 135-140 Hz, $F_{8,32} = 2.40$, $p < 0.05$; con 140-145 Hz, $F_{8,32} = 4.38$, $p < 0.01$; con 145-150 Hz, $F_{8,32} = 2.57$, $p < 0.05$; con 150-155 Hz, $F_{8,32} = 2.55$, $p < 0.05$; y con 155-160 Hz, $F_{8,32} = 2.43$, $p < 0.05$. **6-7 Hz** con 120-125 Hz, $F_{8,32} = 2.55$, $p < 0.05$; con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 3.32$, $p < 0.01$; con 130-135 Hz, $F_{8,32} = 3.72$, $p < 0.01$; y con 135-140 Hz, $F_{8,32} = 3.41$, $p < 0.01$. **7-8 Hz** con 120-125 Hz, $F_{8,24} = 2.82$, $p < 0.05$; con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 5.13$, $p < 0.001$; y con 130-135 Hz, $F_{8,24} = 2.20$, $p < 0.01$. **9-10 Hz** con 75-80 Hz, $F_{8,24} = 2.23$, $p = 0.06$; con 80-85 Hz, $F_{8,24} = 2.53$, $p < 0.05$; con 90-95 Hz, $F_{8,24} = 2.97$, $p < 0.05$; con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 3.23$, $p < 0.001$; y con 135-140 Hz, $F_{8,32} = 2.93$, $p < 0.05$. **10-11 Hz** con 125-130 Hz, $F_{8,32} = 2.95$, $p < 0.05$; y con 130-135 Hz, $F_{8,32} = 2.32$, $p < 0.05$. **11-12 Hz** con 70-75 Hz $F_{8,24} = 1.13$, $p < 0.05$; y con 180-185 Hz, $F_{8,16} = 1.16$, $p < 0.05$. **Figura E-III.6**). El resto de comparaciones estadísticas pueden consultarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 4**.

Tras la administración de la ketamina, la comodulación aumentó de manera generalizada. Aunque también lo hizo en la SW, los únicos cambios significativos que se encontraron fueron en las regiones en las que disminuyó la comodulación (0.1-1 Hz con 80-85 Hz y con 85-90 Hz. *Dunnnett* test, $p < 0.05$. **Figura E-III.6**, clúster 1, cuadros blancos con puntos) y en los 1-2 Hz con 120-125 Hz y 125-130 Hz, donde sí que aumentó el acoplamiento (*Dunnnett* test, $p < 0.05$. **Figura E-III.6**, clúster 1, cuadros blancos con puntos).

El resto de cambios fueron aumentos significativos, durante el primer clúster y se dieron prin-

principalmente en los rango de frecuencia theta bajo/gamma bajo, alto y HFO (*Dunnett test*, $p < 0.05$), aunque también se dieron en theta alto con el gamma alto y las HFO (*Dunnett test*, $p < 0.05$). **Figura E-III.6**, clúster 1, cuadros blancos con puntos).

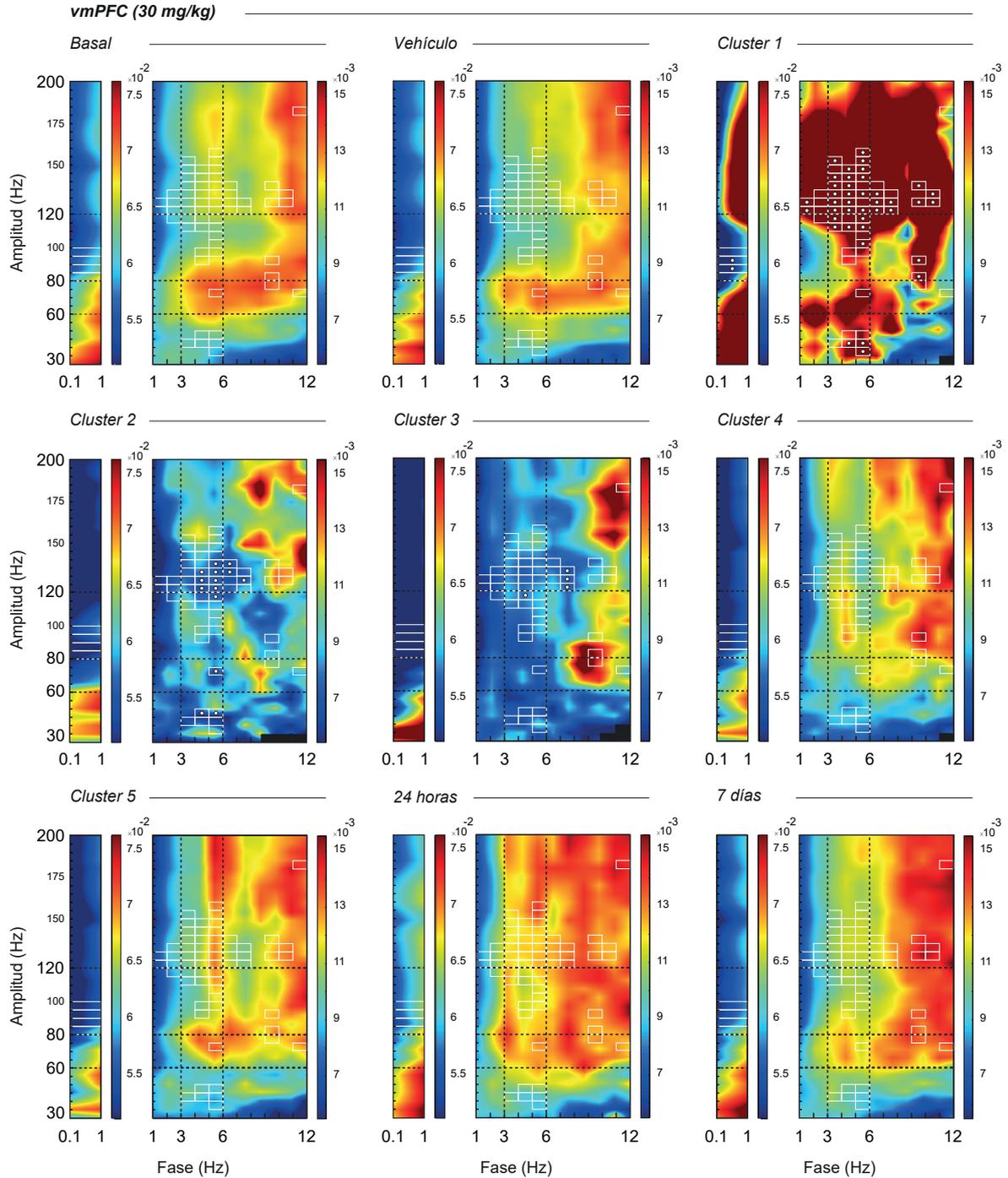


Fig. E-III.6: Comodulación intra-estructuras de vmPFC (30 mg/kg) La comodulación entre la SW y theta (0.1 – 12 Hz) y las oscilaciones gamma (30-200 Hz) está representada a través de comodulogramas. Cada comodulograma está formado por un total de 408 rangos de frecuencia, es decir, la comodulación fue calculada para cada uno de los intervalos de 1 Hz en los que esta dividida la fase (12 intervalos, desde 0.1 hasta los 12 Hz) con los intervalos de 5 Hz en los que dividió la oscilación gamma (34 intervalos, desde los 30 hasta los 200 Hz). (Continúa en la página siguiente).

Fig. E-III.6: (Continuación). Cada uno de los rangos de frecuencias muestra el promedio de ese rango de todos los animales del grupo, en sus respectivos días. Los colores indican el valor de la comodulación estando representados en colores rojizos aquellos valores más altos y en azul los más bajos. Tras la administración de 30 mg/kg de ketamina, la vmPFC mostró grandes cambios en el acoplamiento durante el 1^{er} clúster. Además, estos cambios también se extendieron durante el 2^o y 3^{er} clúster. Durante el 1^{er} clúster se produjo un incremento generalizado del acoplamiento, siendo significativos aquellos situados principalmente en el theta bajo (3-6 Hz) y los gamma bajo, alto y HFO; y el theta alto (6-12 Hz) con las HFO. Durante este clúster, a parte del aumento generalizado, también disminuyeron algunos rangos de frecuencias situados en la SW (0.1-1 Hz) y el gamma alto. Los cambios encontrados en los siguientes 2 clústers (2^o y 3^{er}) fueron disminuciones del acoplamiento (a diferencia de lo ocurrido en el 1^{er} clúster). Concretamente, durante el 2^o clúster, las disminuciones ocurrieron mayoritariamente en las frecuencias situadas entre los 4 y los 7 Hz (theta bajo y alto) y las HFO. En el 3^{er} clúster esta disminución fue significativa únicamente entre los 6-7 Hz y las HFO. Cada rango de frecuencias fue comparado mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto (tiempo). Los cuadrados blancos muestran aquellas regiones en las cuales el factor tiempo del ANOVA mixto mostró significación o tendencia estadística ($p < 0.06$). Los valores estadísticos pueden consultarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 4**). El punto blanco en su interior indica significación estadística ($p < 0.05$) en la prueba *post hoc*, el test de *Dunnnett*.

En este caso si se puso de manifiesto que algunos cambios se prolongaban más allá de los 10 minutos. En concreto, durante el 2^o y el 3^{er} clúster, el patrón cambió y la comodulación disminuyó por debajo de los niveles basales. De nuevo, esta disminución ocurrió sobre todo en las frecuencias theta bajo durante el 2^o clúster, con el gamma bajo, medio, alto y las HFOs, siendo la mayor parte de los cambios significativos con esta última (*Dunnnett* test, $p < 0.05$). **Figura E-III.6**, clúster 2, cuadros blancos con puntos). Las disminuciones en el acoplamiento también se produjeron en el theta alto y las HFO en el 3^{er} clúster (*Dunnnett* test, $p < 0.05$). **Figura E-III.6**, clúster 3, cuadros blancos con puntos). Durante el 4^o y 5^o clúster la comodulación regresó a los niveles basales y en esta ocasión, ninguna de las frecuencias significativas del ANOVA, alcanzó la significación estadística en la prueba *post hoc* (*Dunnnett* test, $p > 0.05$). **Figura E-III.6**, clúster 4 y 5). 24 horas después de la administración, la comodulación theta bajo/gamma alto y HFO parecía volver a estar incrementada, sin embargo, de nuevo, el test de *Dunnnett* no sobrepasó la significación estadística ($p > 0.05$). 7 días después, el acoplamiento volvió a obtener un perfil similar al del registro basal.

En conclusión, los resultados parecen mostrar una mayor sensibilidad del HPCd a la a dosis baja ya que ésta provocó cambios en el acoplamiento fase amplitud en esta área, pero apenas lo hizo en la vmPFC. Sin embargo, la administración de la dosis alta, parece que afectó más y durante más tiempo a vmPFC ya que, provocó cambios de acoplamiento en más regiones, que en el HPCd.

La ketamina altera la comunicación entre HPCd y vmPFC, pero de manera diferente según la dosis administrada

Una vez analizados los cambios dentro de cada estructura procedimos a estudiar variaciones en la relación entre las dos regiones. En primer lugar, se llevaron a cabo análisis de información mutua, que dan una idea de cuánta información están compartiendo las estructuras estudiadas.

Hay que explicar que, así como para el análisis de potencia, balance excitación/inhibición y acoplamiento fase-amplitud intraestructura se ha empleado la estructura temporal obtenida por el análisis de clústers para cada una de ellas. Al no ser esta igual entre estructuras, para los análisis entre estructuras se decidió utilizar la de vmPFC, la cual presenta un mayor número de clústers, con el fundamento de mantener el máximo de resolución temporal en la detección de posibles efectos.

En primer lugar, se calculó la información mutua general (de la señal sin filtrar). **Figura E-**

III.7a1 izquierda para 5 mg/kg y **a2** izquierda para 30 mg/kg) lo que evidenció que, tras administrar la dosis de 5 mg/kg se produjeron cambios de la información mutua general entre HPCd y vmPFC a lo largo del tiempo (*tiempo*: $F_{5,20} = 7.55$, $p < 0.001$). Estas variaciones se reflejaron de dos formas. La primera se puede observar durante el 1^{er} clúster, en el cual, a pesar de no alcanzarse la significación estadística en las pruebas *post hoc* (*Dunnett test*. $p > 0.05$), se observa una disminución de la información mutua inmediatamente tras la administración de ketamina. La segunda se observa a la 7 días después. En ese momento, las pruebas *post hoc* mostraron un incremento significativo de la comunicación entre ambas estructuras (*Dunnett test*. $p < 0.05$. **Figura E-III.7a1** izquierda).

La posterior descomposición y filtrado de la señal (**Figura E-III.7a1** derecha) evidenció que las variaciones de información mutua general estaban provocados principalmente por cambios en la oscilación SW (*tiempo*. $F_{5,20}^{5,20} = 3.53$, $p < 0.05$) y beta (*tiempo*. $F_{5,20} = 5.84$, $p < 0.05$). Concretamente estos fueron un descenso de la comunicación en la SW durante el 1^{er} clúster (*Dunnett test*. $p < 0.05$) y el aumento de esta en la oscilación beta a la semana (*Dunnett test*. $p < 0.001$). Por último, no se reflejaron cambios en las oscilaciones theta (*tiempo*. Theta bajo: $F_{5,20} = 0.67$, $p > 0.05$. Theta alto: $F_{5,20} = 0.263$, $p > 0.05$).

La dosis de 30 mg/kg provocó un aumento de la comunicación general entre ambas estructuras tras los primeros 10 minutos y hasta el final del registro ($F_{8,24} = 39.01$, $p < 0.001$. *Dunnett test*. Clúster 2,3,4 y 5, $p < 0.001$. **Figura E-III.7a2** izquierda). La posterior descomposición y filtrado del LFP permitió comprobar qué oscilaciones producían este perfil. Durante los primeros 10 minutos (1^{er} clúster) se perdió la comunicación entre ambas estructuras en todos los rangos del LFP estudiados (*tiempo*. SW: $F_{8,24} = 4.94$, $p < 0.001$; Theta bajo: $F_{8,24} = 19.66$, $p < 0.001$; Theta alto: $F_{8,24} = 28.45$, $p < 0.001$; y beta: $F_{8,24} = 60.83$, $p < 0.001$. *Dunnett test* en todos los casos, $p < 0.001$. **Figura E-III.7a2** derecha).

Sin embargo, durante los 10 minutos siguientes (2^o clúster) los valores de información mutua en SW se normalizaron y los de theta bajo, alto y beta aumentaron mucho (*Dunnett test* para theta bajo, theta alto y beta, $p < 0.001$). Aunque este aumento fue breve, porque durante los siguientes clústers comenzó a disminuir, hasta alcanzar, en el 4^o clúster, el theta alto la igualación con el basal (*Dunnett test*: clúster 2 y 3, $p < 0.001$; clúster 4 y 5, $p > 0.05$) y hacerlo en el 5^o el beta (*Dunnett test*: clúster 2, 3 y 4, $p < 0.001$; y clúster 5, $p > 0.05$). En la oscilación theta bajo, los niveles también ascendieron en el 2^o clúster (*Dunnett test*: $p < 0.001$) sin embargo, tras este ascenso, la información mutua entre ambas estructuras disminuyó rápidamente, volviendo en el 3^o clúster a niveles basales (*Dunnett test*: $p > 0.05$). Tras el 3^{er} clúster, el descenso continuó, situándose los valores información mutua por debajo de los niveles basales en el 4 y 5^o clúster (*Dunnett test*: clúster 4 y 5, $p < 0.001$. **Figura E-III.7a2** derecha)

En segundo lugar, calculamos el acoplamiento entre fases (PLV. **Figura E-III.7B**, **b1** para 5 mg/kg y **b2** para 30 mg/kg), cálculo que también reveló alteraciones inducidas por la administración de ketamina, de diferente perfil según la dosis. La de 5 mg/kg únicamente aumentó este acoplamiento durante los primeros 10 minutos en la oscilación theta bajo (*tiempo*. $F_{5,20} = 5.52$, $p < 0.01$. *Dunnett test*, $p < 0.001$. **Figura E-III.7B1**) que volvió a los niveles basales transcurrido este tiempo (*Dunnett test*. $p > 0.05$). Este cambio en el PLV se puede observar en los diagramas de rosas de la **Figura E-III.7c1**. Los valores de PLV de la oscilación theta bajo en 1^{er} clúster están comprendidos en un rango más estrecho que en el periodo basal y el clúster 2, lo que indica un acoplamiento de fase mayor. El resto de análisis, realizados en el resto de oscilaciones, no mostraron cambios (*tiempo*. SW: $F_{5,20} = 0.622$, $p > 0.05$; theta alto: $F_{5,20} = 1.03$, $p > 0.05$; beta: $F_{5,20} = 2.34$, $p > 0.05$; gamma bajo: $F_{5,20} = 1.09$, $p > 0.05$;

gamma medio: $F_{5,20} = 0.22, p > 0.05$; gamma alto: $F_{5,20} = 0.28, p > 0.05$; y HFO: $F_{5,20} = 0.66, p > 0.05$. **Figura E-III.7b1).**

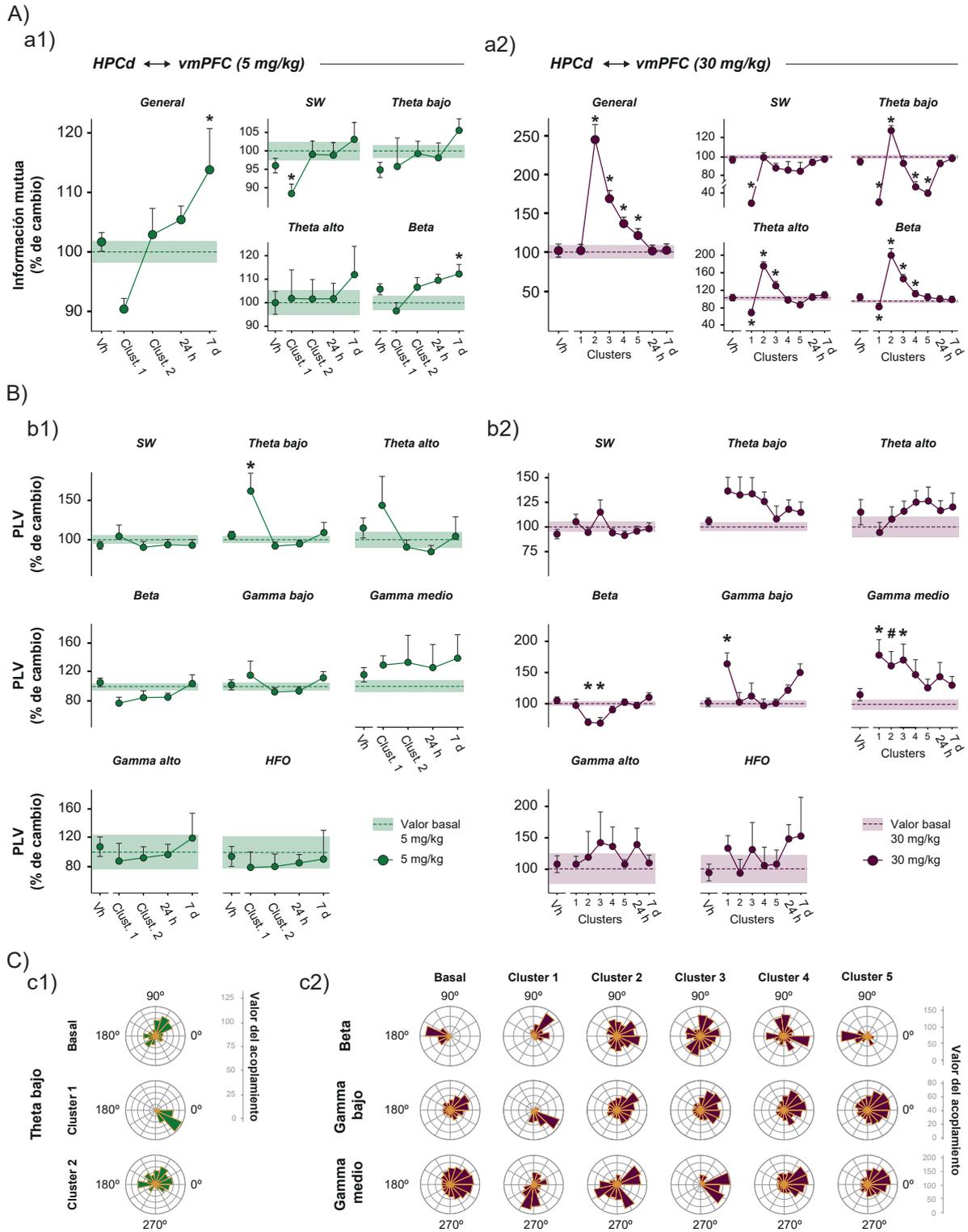


Fig. E-III.7: Información mutua y PLV tras la administración de ketamina. A) Cambios en la información mutua tras la administración de ketamina. (Continúa en la página siguiente)

Fig. E-III.7: (Continuación). A la izquierda en **a1** y **a2** se representa esta variable sin filtrar, denominada información mutua general. A la derecha se representa la información mutua en cada rango de frecuencia: SW, theta bajo, theta alto y beta. Tras la administración de la dosis baja de ketamina la información mutua general desciende durante el tiempo del primer clúster y aumenta a los 7 días de la administración. El filtrado posterior refleja que las disminuciones registradas en la información mutua general se deben a descensos, en concreto, de esta variable en las SW y en el rango beta. La dosis de 30 mg/kg produce un aumento generalizado de la información mutua a durante el 2º clúster. Este perfil se debe principalmente a las oscilaciones theta y beta, ya que la información mutua de la SW disminuye durante el primer clúster y luego se estabiliza. **B)** Cambios en el PLV de ambas áreas. La administración de 5 mg/kg de ketamina produce un incremento del acoplamiento de fase entre ambas estructuras en la oscilación theta bajo (**b1**). La dosis de 30 mg/kg provoca cambios en el acoplamiento de más oscilaciones, entre ellas beta (disminución a partir del segundo clúster) y gamma bajo y medio (aumentó durante el primer clúster en ambos casos y hasta el tercero en el gamma medio. **b2**). **C)** Diagramas de rosas representativos que muestran las variaciones en el PLV de las oscilaciones significativas de la figura **B** (**c1** para la dosis de 5 mg/kg y **c2** para la de 30 mg/kg). En los diagramas de rosas, la uniformidad de las barras representa el PLV. A mayor uniformidad de las barras y mayores valores, mayor PLV. Los puntos de los gráficos de líneas representan la media del porcentaje de cambio y las barras el + SEM (salvo en el caso del vehículo donde se representa la media \pm SEM). La línea discontinua y la sombra representan la media de los valores basales de esa variable y \pm SEM. *Dunnnett test.* #, $p \leq 0.06$; *, $p < 0.05$.

La dosis de 30 mg/kg sí que afectó al acoplamiento de fases de más oscilaciones. En concreto disminuyó este acoplamiento en la oscilación beta (*tiempo.* $F_{8,24} = 4.105$, $p < 0.01$) pero no de manera inmediata, sino durante el 2º y el 3º clúster (*Dunnnett test*, $p < 0.01$). Por el contrario, el PLV en las oscilaciones gamma aumentó: durante los 10 primeros minutos el del gamma bajo ($F_{8,24} = 2.99$, $p < 0.05$. Test de *Dunnnett*, $p < 0.001$) y medio ($F_{8,24} = 2.46$, $p < 0.05$. Test de *Dunnnett*, $p < 0.01$), y el de este segundo rango se mantuvo alto durante los siguientes 30 minutos (*Dunnnett test*: 2º clúster 2, $p = 0.06$; 3º clúster, $p < 0.05$. **Figura E-III.7b2**).

Todos estos cambios pueden observarse en la **Figura E-III.7c2** a través de los diagramas de rosas. El de la oscilación beta, pone de manifiesto un incremento de la dispersión de las barras que forma el diagrama de rosas durante el 2º y 3º clústers. El de las frecuencias gamma refleja el efecto lo contrario, ya que, tras la administración de ketamina, la distribución de las barras se concentra en una región en el clúster 1º (para el gamma bajo y medio), 2º y 3º (para el gamma medio).

Con respecto a la banda theta, a pesar de que el factor tiempo fue significativo (*tiempo:* $F_{8,24} = 3.011$, $p < 0.05$) y los valores de esta frecuencia, se mantienen elevados durante los 4 primeros clústers, ninguna de las comparaciones del test de *Dunnnett* alcanzó la significación ($p > 0.05$).

Los análisis estadísticos no revelaron cambios en el PLV en ninguna de las otras bandas estudiadas entre HPCd y vmPFC (*tiempo.* SW: $F_{8,24} = 0.78$, $p > 0.05$; theta alto: $F_{8,24} = 1.14$, $p > 0.05$; gamma alto: $F_{8,24} = 0.81$, $p > 0.05$; y HFO: $F_{5,20} = 1.49$, $p > 0.05$).

La ketamina aumenta la cantidad de sueño de ondas lentas 24 horas después de su administración

Por último, quisimos comprobar si la administración de ketamina modificaba la arquitectura del sueño ya que, como se ha explicado previamente, las alteraciones del sueño están muy presentes en la patología de la depresión. Para ello, se calculó el porcentaje de tiempo que el animal pasaba en SWS y REM, así como el porcentaje de microdespertares de cada uno de los periodos de sueño delimitados tal y como se explica en la metodología.

Los análisis indicaron que, la arquitectura del sueño se vio modificada tras el tratamiento con ketamina, pero solo a las 24 horas tras su administración, ni el mismo día ni a la semana.

En detalle, ambas dosis aumentaron la cantidad de sueño SWS (*tiempo.* 5 mg/kg: $F_{4,20} =$

7.01, $p < 0.001$; 30 mg/kg: $F_{4,8} = 2.63$, $p < 0.05$) a las 24 horas de la administración de ketamina (*Dunnnett* test en ambos casos, $p < 0.001$). Además, parece también que, a este tiempo, se produzca una disminución del sueño REM tras administrar ambas dosis, aunque a nivel estadístico este cambio solo se alcanza la tendencia (estadística) en la dosis baja (*tiempo*. 5 mg/kg: $F_{4,20} = 2.63$, $p = 0.06$; 30 mg/kg: $F_{4,8} = 1.20$, $p > 0.05$), ya que, las comparaciones por parejas no resultaron significativas (test de *Dunnnett*, $p > 0.05$. **Figura E-III.8A, B y C**).

Por último, el número de microdespertares (periodos de vigilia activa o tranquila inferiores a los 30 segundos, que pueden dar una idea de cómo de fragmentado está el sueño. **Figura E-III.8A y B**) cambiaron únicamente, tras la administración de la dosis de 30 mg/kg (*tiempo*. $F_{4,8} = 4.7$, $p < 0.05$; 5 mg/kg: $F_{1,4,7} = 0.64$, $p > 0.05$), pero ninguna de las comparaciones de las pruebas *post hoc* alcanzó la significación estadística (*Dunnnett* test. $p > 0.05$).

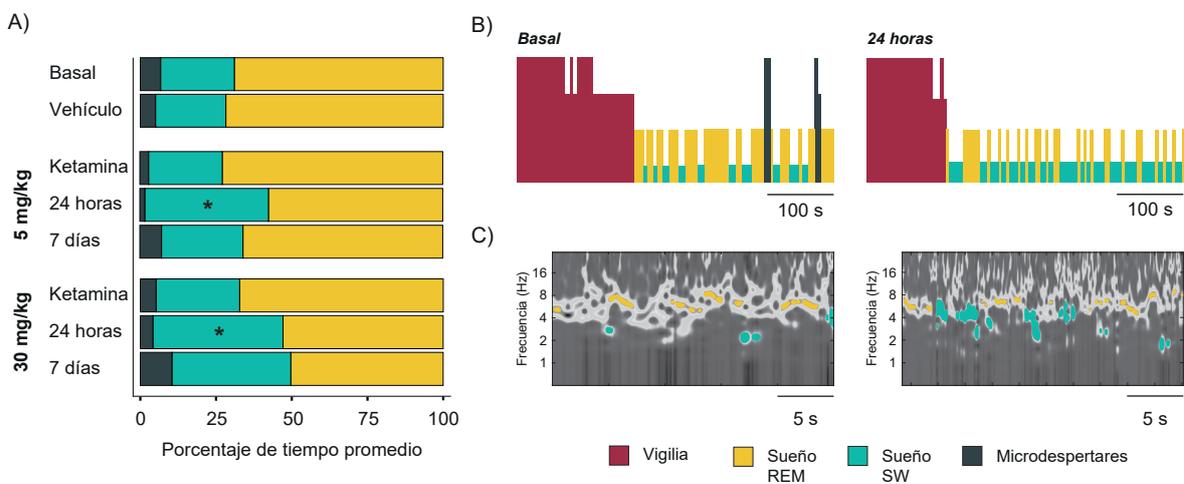


Fig. E-III.8: Efectos de la administración de ketamina sobre la arquitectura del sueño. **A)** Ambas dosis de ketamina producen un aumento significativo del sueño SWS al día siguiente de su administración, así como una disminución no significativa del sueño REM. No se observaron cambios en los microdespertares. **B)** Representación de un periodo representativo de la actividad del animal (600 segundos) donde se puede observar el aumento del sueño SWS a las 24 horas de la administración en comparación con el registro basal y la disminución no significativa de REM. **C)** Wavelets representativos (20 segundos) donde, se puede observar la actividad del HPCd de un animal. En verde están señalados aquellos periodos en los cuales la potencia de la onda lenta superó un 25% de la potencia total de la banda (sueño SWS). En amarillo están señalados aquellos donde la potencia theta superó el 75% de la potencia total de la banda (sueño REM). Se puede observar que, 24 horas después de la administración de ketamina, el número de regiones de sueño SWS detectadas es mayor que el de REM. *Dunnnett* test. *, $p < 0.05$.

Discusión

En el año 2000, Berman y colaboradores demostraron que la ketamina, un fármaco que clásicamente se había empleado como anestésico, tenía un elevado potencial antidepresivo y, además, de efecto rápido y duradero, incluso en pacientes resistentes a otros tratamientos (Murrough et al., 2013; Phillips et al., 2019; Marcantoni et al., 2020; McIntyre et al., 2021; Alnefeesi et al., 2022). Estos resultados tan prometedores se tradujeron en que la compañía Janssen Research & Development® comenzó los ensayos clínicos de la (S) - ketamina intranasal en 2018, probando que es más efectiva en sujetos con depresión que los tratamientos antidepresivos orales existentes y que el placebo (Canuso et al., 2018; Daly et al., 2019; Popova et al., 2019; Jelen & Stone, 2021). Así, la FDA aprobó su uso en 2019 (Wei et al., 2020).

Sin embargo, la ketamina también da lugar a efectos no deseados importantes, como el estado psicótico que origina tras su administración (Krystal et al., 1994; Murrough et al., 2013). De hecho, se ha propuesto que los efectos psicodisociativos y antidepresivos de este fármaco estén relacionados entre sí como si estuviesen en los extremos de un continuo, y que lo mismo podría ocurrir para otros procedimientos con potencial antidepresivo, como la privación de sueño o la administración de psicodélicos clásicos (Haarsma et al., 2021). Esto hace crítico para el correcto uso de la ketamina como antidepresivo, conocer bien la transición de un tipo de efecto al otro y cómo ésta depende de la dosis.

Por otro lado, a pesar de que la depresión es una enfermedad eminentemente femenina (IHME, 2019; Arias-de la Torre et al., 2021) en gran parte de la investigación en general no se tiene en cuenta el factor sexo y, en cuanto a la experimentación en animales en particular, ésta se realiza mayoritariamente en modelos animales macho (Beery & Zucker, 2011).

Por todo ello, en la primer parte de nuestro trabajo nos planteamos estudiar tanto el potencial antidepresivo como los signos de tipo psicótico que inducían dos dosis de ketamina de rango muy distinto: 5 y 30 mg/kg. Estas dosis fueron escogidas basándonos en trabajos de otros grupos que demostraban el valor antidepresivo de estas dosis, como en resultados previos de nuestro laboratorio, en los que comprobamos que ambas concentraciones inducían cambios en la actividad cerebral, pero de manera diferente.

En concreto, pretendíamos hacer un estudio profundo de los efectos de ambas naturalezas provocados por la ketamina en los mismos animales y compararlos entre dosis. Además, realizamos nuestros experimentos en machos y hembras de ratón, lo que nos permite estudiar el posible dimorfismo sexual en el efecto de la dosis estudiadas.

Por estas razones, la hipótesis de partida de esta primera parte del trabajo fue que: la ketamina provocará cambios comportamentales reflejo de su potencial antidepresivo y psicodisociativo de magnitud y duración diferente según la dosis empleada y el sexo de los animales.

La ketamina induce efectos psicodisociativos a ambas dosis estudiadas, pero los producidos por la dosis de 30 mg/kg son de mayor magnitud y duración que los generados por la dosis de 5 mg/kg; además, los machos parecen ser más sensibles a este compuesto que las hembras, especialmente a dosis altas.

Ya en la década de 1960 se identificó que los antagonistas de los receptores NMDA inducían signos clínicos similares a los observados en los trastornos psicóticos (Beck et al., 2020). La ketamina, en particular, provoca de manera transitoria efectos similares a los síntomas de la esquizofrenia, mayoritariamente sintomatología positiva, (Lahti et al., 2001) aunque también

se puede observar sintomatología negativa (Krystal et al., 1994).

En roedores, el estado psicótico al administrar dosis subanestésicas de ketamina se manifiesta en forma de anormalidades del comportamiento como estereotipias, ataxias o deterioro cognitivo (Buuse, 2010; Lai et al., 2013; Jones et al., 2014). De hecho, estas variables, así como la locomoción, se estudian de manera habitual para evaluar sintomatología de tipo psicótico inducida por drogas (Kos et al., 2006; J. Liu et al., 2006; Annafi et al., 2017; J. L. Wu et al., 2020). Por eso, en nuestro trabajo hemos evaluado dichas conductas durante los 10 minutos siguientes a la administración de dos dosis de ketamina (5 y 30 mg/kg), en dos grupos independientes, estudiando su evolución temporal, y comparándolos con un grupo control, en machos y en hembras de ratón.

Además, en estos mismos animales hemos analizado alteraciones en la exploración y la discriminación en un test de Reconocimiento de Objetos (NORT), variables indicativas de afectaciones de naturaleza cognitiva. Este test se puede utilizar para evaluar la memoria de corto, medio o largo plazo, según se diseñe, (R. E. Clark et al., 2000; Tagliabata et al., 2009; Antunes & Biala, 2012) y también puede reflejar alteraciones en percepción (Delgado-Sallent et al., 2023). Por todo ello, el NORT se puede emplear para valorar estados de tipo psicótico (Hou et al., 2013; Jeevakumar et al., 2015; Hauser et al., 2017).

Como se dijo anteriormente, uno de los detalles importantes de nuestro trabajo es que para cada variable analizada hemos estudiado su evolución temporal a lo largo de los 10 minutos, lo cual nos permite observar y discutir detalles particulares que habían pasado desapercibidos al estudiar los 10 minutos en un bloque.

Así, el análisis de la evolución temporal de las ataxias, cuyas puntuaciones se mostraron diferentes entre sexos, reveló un efecto mayor de la dosis alta, y especialmente en machos. La dosis de 5 mg/kg afectó a las hembras durante los primeros 4-5 minutos (también es el periodo en que los valores expresados son patológicos). En los machos se alcanzan valores no patológicos algo más tarde (minuto 5-6) aunque no llegan a igualarse a las puntuaciones del control hasta el minuto 8-9. Sin embargo, aunque los perfiles entre dosis sean distintos, las comparaciones minuto a minuto entre machos y hembras nunca son estadísticamente diferentes. Al administrar la dosis elevada, el efecto del sexo es más pronunciado: en hembras se alcanzan valores no patológicos en el minuto 6-7, mientras que en machos el efecto parece permanecer durante los 10 minutos del test, e incluso, superar este tiempo. Además, como se dijo anteriormente, se confirmaron diferencias entre sexos a nivel estadístico, de manera que el perfil de los grupos se hace diferente en el minuto 4-5: los machos siguen afectados, mientras que las hembras se recuperan.

En lo que a la expresión de estereotipias se refiere, no se observan diferencias entre sexos, pero sí entre dosis: se registran niveles elevados hasta el minuto 3-4 originados por la dosis de 5 mg/kg, y hasta el minuto 7-8 máximo por la dosis de 30 mg/kg.

Estos resultados en cuanto a la manifestación de conductas estereotipadas y ataxias, por estas dosis y a estos tiempos, son coherentes con lo recogido en la bibliografía. De hecho, en ratones se ha descrito lo que se conoce como efectos “*PCP-like*”, es decir, similares a aquellos inducidos por esta droga (PCP) y que son considerados psicomiméticos (Kos et al., 2006). Dentro de estas conductas se engloban ataxias y estereotipias, caídas desde una plataforma elevada, manifestación de alteraciones en locomoción/exploración, medidas como número de *groomings* y *rearings*, y de deambulación en un *Open Field* (Kos et al., 2006). Estos efectos *PCP-like* se han encontrado aumentados durante los primeros 20 minutos tras la administración de una dosis de 50 mg/kg (con algunos matices en función de la conducta en concreto), y se ha descrito que

su máximo se observaría a los 5 minutos tras la administración, y a este tiempo son también producidos por dosis menores (25 y 33 mg/kg; Kos et al., 2006).

Además, se ha reportado que la administración aguda de 10 mg/kg de ketamina, en ratón, da lugar a la manifestación de estereotipias desde los 10 hasta los 60 min (Annafi et al., 2017). Y que la dosis de 75 mg/kg aumenta los comportamientos estereotipados, en este caso desde los 30 a los 60 minutos (J. Liu et al., 2006; seguramente por ser la dosis tan elevada), sin embargo, también lo hace durante los primeros 10 min con una dosis de 50 mg/kg en ratas (Yadav et al., 2018). Otros autores han descrito también incrementos de ataxias y estereotipias tras la administración de ketamina a dosis en un rango similar a los empleados en nuestro trabajo (Lai et al., 2013; Ossato et al., 2018) y en tiempos similares a los nuestros. Lai et al. (2013) comprobaron que con 10 mg/kg, las estereotipias duran en torno a los 16.2 min, con el pico a los 3.5 minutos. Con la misma dosis, los comportamientos atáxicos permanecen aproximadamente durante 25 minutos, dándose el pico máximo a los 12 minutos. En este mismo estudio, 50 mg/kg provocaron estereotipias durante 25 minutos y ataxias hasta los 51, dándose los picos máximos de cada conducta a los 12 y a los 2.6 minutos, respectivamente. Ossato et al. (2018), tras la utilización, también encontraron comportamientos estereotípicos tras la administración de 30 mg/kg, obteniéndose las puntuaciones más altas durante los 5 primeros minutos.

El otro aspecto que hemos estudiado en nuestro trabajo es la locomoción. Esta variable se evalúa habitualmente como indicativo de estado psicótico (Kos et al., 2006), pero con respecto a los efectos de la ketamina sobre esta medida, la bibliografía muestra resultados dispares. Se han descrito incrementos, en algunos casos de manera consecutiva a la administración (Zanos et al., 2016: aumenta la distancia total recorrida de 25 y 75 mg/kg de (2*S*,6*S*)-HNK, produciéndose estos incrementos durante los primeros 10 min; Estrada-Reyes et al., 2021: durante 5 minutos, dosis de 10 y 30 mg/kg, midiendo actividad deambulatoria; Lai et al., 2013: durante la primera media hora, 10 y 50 mg/kg). En otros casos, estos incrementos se ponen de manifiesto más tarde, a partir de los 30 minutos (J. Liu et al., 2006 con 75 mg/kg de ketamina y Chatterjee et al., 2011 con 50, 100 y 200 mg/kg, describen incrementos con diferentes perfiles temporales, pero siempre a partir de los 30 minutos). También se han descrito ausencia de cambios o disminuciones del movimiento por parte de los animales (Popik et al., 2017: 25 mg/kg, los primeros 10 minutos después de la administración; Acevedo et al., 2023: 15 mg/kg, a los 30 minutos de la administración).

Puede ser que esta disparidad entre publicaciones refleje afectaciones diferentes según la dosis, el perfil temporal estudiado, o incluso maneras distintas de cuantificar la variable. En cualquier caso, en nuestro trabajo decidimos analizar también la locomoción para comprobar si se daban incrementos, o si, por el contrario, se producía un descenso de la capacidad de deambular por la caja en los animales. En concreto, observamos disminuciones de locomoción intensas (hasta el último minuto del test) aunque solo originadas por la dosis alta y, en principio, de igual manera en ambos sexos.

Los análisis realizados hasta aquí permiten concluir, en conjunto, que la administración de ketamina tanto a 5 mg/kg como a 30 mg/kg induce alteraciones que pueden considerarse efectos psicóticos, siendo significativamente mayores los originados por la dosis alta. Además, estos efectos se observan tanto en machos como en hembras, aunque algunos de ellos son de mayor intensidad y duración en machos. Así, la dosis de 5 mg/kg provoca efectos más breves en hembras, y que parecen acabar antes de la finalización del test, mientras que en machos es posible que se prolongaran hasta casi el final de éste. En hembras el efecto de la dosis de 30 mg/kg sería más prolongado, pero similar al que induce la dosis baja en machos; en estos el efecto sería más intenso, superando seguramente los 10 minutos de duración del test. Por

otro lado, como hemos indicado anteriormente, también hemos analizado la exploración y la discriminación en el NORT como variables indicativas de afectaciones a nivel cognitivo.

El análisis de la exploración de los 10 minutos de test de manera global, como se suele hacer habitualmente, (Lueptow, 2017) mostró que se producía una disminución de esta variable al administrar 30 mg/kg, de igual manera en machos que en hembras, y no se reflejó efecto de la dosis de 5 mg/kg. En cuanto a D1 (discriminación absoluta), se vió que ambas dosis la reducían, y en ambos sexos, pero el efecto era mayor en el caso de la dosis elevada. A parte de esto, también se observó una disminución en las variables D2 (índice de discriminación) y D3 (índice de preferencia) por ambas dosis, pero con el mismo perfil y de igual manera en ambos sexos.

Sin embargo, el análisis profundo minuto a minuto de la exploración y de D1 puso de manifiesto más detalles. En primer lugar, uno de los resultados que llama la atención en las evoluciones temporales de la exploración es que en ambos grupos control se observa una disminución de esta variable. Este fenómeno es normal en un NORT, y refleja un proceso de habituación. Este se produce tanto cuando los dos objetos son iguales como cuando son distintos, porque pasados unos minutos de exploración al objeto nuevo este también pasa a ser familiar, por lo que su exploración ya no tiene por qué ser superior a la del otro (Ennaceur & Delacour, 1988; Neill et al., 2010).

Lo más relevante es, sin embargo, que se revelan efectos de la ketamina que no se detectan en el análisis del tiempo en conjunto, algunos de ellos diferentes entre sexos. Así, mientras que la dosis de 5 mg/kg no tiene efecto sobre la exploración en hembras (sigue un perfil similar al del grupo control), en machos está disminuida hasta el minuto 2-3 si lo comparamos con los valores iniciales del control, y casi hasta el final del test comparando intragrupo y con los valores de las hembras. La dosis de 30 mg/kg afecta también más a los machos (hasta el minuto 6-7 respecto del nivel inicial del control o 9-10 con su propio nivel inicial) que a las hembras (hasta el minuto 3-4). Por lo tanto, se observa de nuevo un efecto más intenso de la dosis superior, y más significativo en machos y se pone de manifiesto un efecto diferencial de la dosis de 5 mg/kg en machos, que habría pasado desapercibido al analizar los 10 minutos en bloque.

Además, se analizó la evolución temporal de la discriminación absoluta (D1. Bevins & Besheer, 2006; de Lima et al., 2006; Barker et al., 2007; Sivakumaran et al., 2018), a la vez que la exploración del objeto nuevo y del antiguo. En este caso no se pusieron en evidencia diferencias entre sexos, pero se vio que la dosis de 5 mg/kg reducía la exploración del objeto nuevo en ambos sexos hasta el minuto 7-8, recuperándose la discriminación en el último minuto del test (9-10 min). La dosis de 30 mg/kg también redujo estos parámetros, en este caso de manera más severa: la exploración del objeto nuevo asciende significativamente en el minuto 8-9 pero no es suficiente para que el parámetro de discriminación se haga significativamente mayor antes que acaben los 10 minutos del test.

Estos resultados, podrían estar indicando que las variables de naturaleza cognitiva se ven afectadas durante un tiempo mayor que las motoras (ataxias, estereotipias y locomoción) tras la administración de ambas dosis y siendo más claro en la dosis alta. Aunque serían necesarios más estudios para poder confirmarlo.

Un tema importante a considerar en nuestro experimento es la afectación de qué aspecto cognitivo en concreto está poniendo de manifiesto nuestro NORT. Como se dijo en apartados anteriores, este procedimiento se puede usar para testar memoria a corto, medio o largo plazo, variando el tiempo entre fases (R. E. Clark et al., 2000; Taglialatela et al., 2009; Antunes & Biala, 2012) el cual, puede oscilar de 10 segundos a 24 horas (para una revisión ver Antunes &

Biala, 2012). Pero, además, también puede reflejar alteraciones en percepción (Delgado-Sallent et al., 2023), es decir, puede revelar que el animal no sea capaz de detectar que uno de los objetos es nuevo. Teniendo en cuenta que, aunque sea al final del test según el caso, nuestros animales recuperan la exploración preferencial del objeto nuevo y, parcialmente D1, por lo que parece que recuerdan qué objetos había en la fase anterior, siendo entonces más probable que, la afectación que está produciendo la ketamina sea de naturaleza sensorial.

En coherencia, algunos estudios clínicos con ketamina o PCP en humanos han revelado fallos en pruebas de discriminación visual (Uhlhaas et al., 2007; Meuwese et al., 2013), tareas auditivas como la de “*mismatch negativity*” (para una revisión ver Rosburg & Kreitschmann-Andermahr, 2016). Además, se ha demostrado que los pacientes con esquizofrenia presentan déficits de percepción, relacionada con los sentidos; y cognitivos, relacionados con la atención (Braff, 1993; Pearl et al., 2009; Szycik et al., 2009; Stekelenburg et al., 2013; Qin et al., 2023).

En animales también se han observado déficits sensoriales y cognitivos a través de diversos estudios. Por ejemplo, se han descrito reacciones atípicas al dolor (concretamente hiperalgesia, Becker et al., 2006) como consecuencia de la administración de ketamina, alteraciones en la capacidad de reconocimiento de otros sujetos (Silvestre et al., 1997; Kurylo & Gazes, 2008), y en pruebas visuo-olfativas y visuo-táctiles (Cloke et al., 2016). Además, estudios como los descritos en la revisión de Cadinu et al. (2018) y el realizado recientemente por Delgado-Sallent et al. (2023) también ponen de manifiesto fallos en la discriminación tras el uso de antagonistas NMDA. En concreto, Delgado-Sallent et al. (2023) observan una disminución de la discriminación del objeto nuevo tras la administración del PCP, discutiendo que estos resultados se debían a fallos de la integración de la información entre el HPCd y la mPFC.

Por otro lado, es interesante comentar que mucha de la bibliografía en roedores revisada, refleja efectos mayores a nivel psicótico de la ketamina sobre hembras que sobre machos, a diferencia de lo que observamos en nuestro trabajo. Por ejemplo, ratas hembra sometidas a aislamiento social y a la administración crónica de ketamina, presentaron un deterioro más grave de la activación sensorial que los machos (Kekesi et al., 2015). Y. Y. Zhao et al. (2013) y Damazio-Pacheco et al. (2019) también encontraron una mayor afectación de las hembras en pruebas de inhibición tras el tratamiento crónico de MK-801 y ketamina, respectivamente. Damazio-Pacheco et al. (2019) además, reportaron un aumento de la locomoción. Sin embargo, también hay trabajos, como el de C. Wilson et al. (2007), en los que no se encuentran diferencias entre sexos en la conducta estereotípica. Además, se ha propuesto que los estrógenos representasen un elemento protector antipsicótico, y de hecho, se les considera de los factores protectores más efectivos (para más información ver la revisión de Mendrek & Fattore, 2017).

En cualquier caso, y dada la poca investigación existente específicamente en hembras o comparando entre sexos (Beery & Zucker, 2011), lo que queda claro es que todavía son necesarios muchos estudios sobre el efecto de la ketamina que incluyan la variable sexo.

Por último, el NORT realizado las 2 horas después de la administración, junto al resto de conductas medidas, muestran que el efecto psicótico ha desaparecido por completo. Por lo tanto, y de manera acorde a la bibliografía (Chatterjee et al., 2011; J. C. Lin, Chan et al., 2016; J. C. Lin, Lee et al., 2016), los efectos descritos no permanecerían a las 2 horas.

Ambas dosis de ketamina estudiadas muestran potencial antidepressivo a las 2 y a las 24 horas tras su administración, pero no a la semana. Este efecto parece igual entre sexos

En este experimento hemos evaluado mediante TST y FST, el potencial antidepressivo de 5 y 30 mg/kg de ketamina a las 2 y 24 horas y a la semana de su administración. Nuestros resultados muestran que ambas dosis testadas producen incrementos en conductas que pueden interpretarse como reflejo del potencial efecto antidepressivo de la ketamina, y de forma equivalente en machos y hembras. Estas conductas se observan a las 2 y las 24 horas, pero no a los 7 días después de la administración. La única diferencia encontrada entre sexos se observa en el parámetro natación del FST: las hembras que habían recibido 5 mg/kg muestran mayor tiempo de natación que los machos con la misma dosis. Sin embargo, esto se debe a que los machos de este grupo escalan más que nadan, lo que produjo que se manifestasen estas diferencias.

Los procedimientos llevados a cabo en nuestro trabajo (TST y FST) para medir potencial antidepressivo de fármacos han sido ampliamente utilizados, como así lo refleja la bibliografía (Petit-Demouliere et al., 2005; C. H. Duman, 2010; Autry et al., 2011; Castagné et al., 2011; Stukalin et al., 2020, entre muchos otros). Además, nuestros resultados son coherentes con tantos otros que demuestran efecto antidepressivo de dosis similares a las que nosotros empleamos, y con una durabilidad similar (para más información ver las revisiones de Browne & Lucki, 2013; Polis et al., 2019; Weston et al., 2021 [en roedores] y Corriger & Pickering, 2019; McIntyre et al., 2021 [en humanos]). Aunque también los hay que muestran efectos de mayor duración (Clarke et al., 2017, 8 días con una única dosis de 10 mg/kg; Popik et al., 2017, a las 2 semanas con una única dosis de 50 mg/kg;) o que son visibles antes (30 minutos, Kara et al., 2017; Popik et al., 2017).

Todo esto confirma la validez de nuestros resultados: las dosis de 5 mg/kg y 30 mg/kg darían lugar a conductas de tipo “antidepressivo” de manera equivalente y de igual forma en machos y hembras, que serían detectables a las 2 y permanecerían 24 horas tras su administración.

En este sentido, conviene mencionar que también gran parte de la investigación en animales sobre uso de la ketamina como antidepressivo (al igual que con el efecto psicótico) se ha llevado a cabo en machos. Además, los escasos trabajos en hembras muestran resultados contradictorios (Franceschelli et al., 2015) y apuntan también hacia un papel importante los estrógenos en las diferencias encontradas (Gagne et al., 2021). Por ejemplo, se ha visto que las ratas ovariectomizadas no responden al compuesto (al menos a dosis bajas 2.5 mg/kg; Saland et al., 2016). Otro aspecto relevante es que, según la bibliografía, las hembras experimentarían un efecto antidepressivo mayor, que los machos, pero que la ketamina podría ser más nociva para ellas, provocándoles efectos ansiógenos (Thelen et al., 2016; Shin et al., 2019)

En cualquier caso, como se ha indicado antes, se necesita más investigación para profundizar en los efectos sexualmente dimórficos de la ketamina a dosis potencialmente antidepressivas (K. N. Wright & Kabbaj, 2018).

La ketamina induce cambios moleculares relacionados con la plasticidad sináptica

Un elemento que puede contribuir a la optimización del uso de la ketamina como antidepressivo, es profundizar en el conocimiento de los mecanismos moleculares por los cuales ejerce su efecto. Por ello, mediante el experimento II pretendíamos conocer más acerca de las vías que se activan tras administrar nuestras dosis en estudio y a los tiempos en que se ha evaluado la conducta

en el experimento anterior. Con este fin, se midió mediante la técnica de Western Blot, la expresión de mTOR, Akt, ERK (y sus formas fosforiladas/activas) y PSD95 al administrar 5 y 30 mg/kg a las 2 y las 24 horas en HPC y vmPFC.

Este experimento ha permitido la identificación de cambios en diversas moléculas, que podrían representar biomarcadores del efecto de cada dosis; como se ha descrito previamente en el trabajo, la descripción de biomarcadores objetivos y cuantificables puede contribuir tanto al diagnóstico de la enfermedad como, especialmente en este caso, a la identificación del efecto de las terapias (Lopez et al., 2018).

Algunos de los efectos observados son similares entre estructuras; así ocurre para el aumento de la forma fosforilada de ERK, que se refleja en un aumento de la ratio entre esta y su forma inactiva. Aunque en vmPFC se produce a las 2 horas y en HPC a las 24. El resto de cambios son característicos de HPC ya que, a diferencia de corteza, se producen aumentos de la forma fosforilada de Akt (a las 2 horas) y de mTOR (24 horas), mientras que el incremento de la fosforilación de estas proteínas no se refleja en vmPFC.

Tanto Akt como ERK, son moléculas altamente implicadas en los procesos de plasticidad sináptica (Impey et al., 1999; Cristo et al., 2001; J. Sun & Nan, 2017; J. Q. Wang & Mao, 2019). Ambas proteínas tienen en común la acción necesaria de BDNF para que se produzca su fosforilación y pasen a estar en su forma activa (las cuales se encargarían de activar toda la maquinaria sináptica). Por lo tanto, aunque en este experimento no se cuantificó BDNF, los aumentos de las formas fosforiladas de Akt y ERK revelarían la existencia de un aumento previo de BDNF (Yoshii & Constantine-Paton, 2007; H. Wu et al., 2008; Islam et al., 2009; Luo et al., 2015; W. Wang et al., 2015). De hecho, sin el aumento previo de BDNF, los niveles de Akt y ERK no serían superiores a los de un grupo control (para una revisión véase Segal & Greenberg, 1996).

BDNF ha demostrado ser imprescindible para el efecto antidepresivo de la ketamina (Autry et al., 2011; Duncan et al., 2013; Björkholm & Monteggia, 2016; Lepack et al., 2016). Y en coherencia se ha visto que los niveles de esta proteína tras la administración pueden elevarse rápidamente (desde los 30 min. Autry et al., 2011 manteniéndose altos hasta las 24 horas (W. X. Liu et al., 2016). Sin embargo, en los procesos de plasticidad, también son importantes las proteínas que se encuentran “aguas abajo” como las descritas anteriormente (Akt y ERK. N. Li et al., 2010; W. Zhou et al., 2014; J. Tang et al., 2015 Li et al., 2010; Zhou et al., 2014; Tang et al., 2015) y otras como EEF2 (Autry et al., 2011; Monteggia et al., 2013; Nosyreva et al., 2013) o mTOR (Slipczuk et al., 2009; N. Li et al., 2010; W. Zhou et al., 2014; C. Yang et al., 2018), sin las cuales no se produciría el efecto antidepresivo.

Como hemos dicho anteriormente, tras la administración de ambas dosis de ketamina aumentó la forma fosforilada de Akt en el HPC, siendo este resultado consistente con la bibliografía. Sin embargo, también se reflejan en las publicaciones estos incrementos en PFC, aunque en nuestros experimentos no se pudo confirmar la activación de esta vía en esta área. Estudios como el de N. Li et al. (2010) describen aumentos de pAkt 30 minutos y una hora después de administrar ketamina en la PFC. Caffino et al. (2016) también observaron un aumento pAkt en HPC, una hora después de la infusión de 0.5 mg/kg de ketamina en ratas. Por último, y acorde a los resultados anteriores, Dossat et al. (2018) muestran incrementos de la forma fosforilada de esta proteína en ratones macho, tanto en HPC como en PFC 1 hora después de la administración de 1.5 y 3 mg/kg de ketamina.

Aunque ambas vías de señalización dependen de BDNF, el incremento de pERK en HPC no se dio a las 2 horas, pero sí 24 horas después, a diferencia de lo encontrado en PFC, donde ambas

dosis incrementaron la ratio pERK/ERK a las 2 horas. En la PFC, son varios los estudios que encuentran resultados similares a los nuestros (N. Li et al., 2010; Humo et al., 2020). Los resultados de HPC parecen ser diferentes según la bibliografía consultada. Los estudios de Lepack et al. (2016) o el de P. Y. Lin et al. (2021) encontraron aumentos rápidos (a partir de los 15 minutos) en esta área. Sin embargo, M. Zhang et al. (2021), al igual que nosotros, tampoco encontraron aumentos de pERK en HPC 2 horas después de la administración de ketamina. Este hecho puede haber sido causado por la manera en se libera BDNF; Ji et al. (2010) observaron que la liberación rápida de BDNF provocaba que ERK se mantuviera fosforilado durante un intervalo menor a 1 hora y que esta fosforilación se produjera muy rápidamente (< 30 min). Sin embargo, la liberación lenta y sostenida en el tiempo de BDNF (como la que genera la ketamina), hacía que ERK se mantuviese fosforilada durante periodos de tiempos muy largos (> 8 horas) y que esta fosforilación comenzase de manera más lenta (a partir de las 2 horas. Para una revisión del estudio véase Guo et al., 2018). Por lo tanto, este estudio podía explicar que no veamos cambios significativos a las 2 horas en el HPC, pero que si los veamos 24 horas después.

24 horas después, también se encontró aumentado pmTOR en el HPC, pero no lo hizo en PFC a ninguno de los tiempos medidos. Los aumentos en esta proteína se han encontrado en intervalos de tiempo muy variables que van desde la hora (Dossat et al., 2018; Elfving et al., 2022), hasta las 24 horas (N. Li et al., 2010; Akinfiresoye & Tizabi, 2013; C. Yang et al., 2013) e incluso, a los 7 días (X. Zhou et al., 2020) en dosis similares a las nuestras tanto en la PFC, como en el HPC. Como se dijo anteriormente, esta proteína es crucial para el efecto antidepresivo de la ketamina, sobre todo porque será la encargada de poner en marcha la traducción del ADN y la síntesis de nuevas proteínas implicadas en la plasticidad neuronal (Hay & Sonenberg, 2004; Lipton & Sahin, 2014). De hecho, inhibición de mTOR, tras la administración de rapamicina, bloquea los efectos antidepresivos de la ketamina (N. Li et al., 2010; Dwyer et al., 2012; Abdallah et al., 2020).

Por último, los datos de PSD-95 tras la administración de ketamina son variados en la bibliografía. Estudios como el de W. X. Liu et al. (2016) o el de Pryazhnikov et al. (2018) no encontraron aumentos de esta proteína a las 24 horas de la administración de ketamina (en HPC y corteza somatosensorial, respectivamente); o incluso se han visto disminuciones (en HPC; Piva et al., 2021). Sin embargo, otros como el de N. Li et al. (2010) si que encontraron un incremento rápido (2 horas) y mantenido (24 horas) en PFC.

La síntesis de PSD-95 está ligada a la fosforilación de mTOR (Page et al., 2006), por lo que cabría esperar que, si en nuestros experimentos no vemos elevado pmTOR a las 2 horas, o incluso no lo observamos, como es el caso de PFC, no veamos tampoco aumentados los niveles de PSD-95. A las 24 horas los niveles de pmTOR ya han aumentado, sin embargo, no sabemos cuánto tiempo es requerido desde entonces para que se observen incrementados los niveles de PSD-95, ya que esto depende del tiempo necesario para su transcripción y traducción y estos procesos, según la proteína, pueden requerir desde minutos hasta horas (Kidder & McLachlin, 1985; Z. Cheng et al., 2016). De hecho, en el caso de PSD95 se han observado incrementos desde los 30 minutos hasta las 72 horas (N. Li et al., 2010; Pryazhnikov et al., 2018).

En conclusión, estos resultados apuntan a que los efectos antidepresivos de la ketamina van ligados a cambios moleculares producidos, en ambas estructuras, en concreto: los aumentos de la ratio pERK/ERK en vmPFC y HPC (a las 2 horas y a las 24 horas respectivamente) y de la ratio pAkt/Akt (2 horas) y pmTOR/mTOR (24 horas) en el HPC. Como se dijo anteriormente, todas estas proteínas tienen funciones en procesos de plasticidad sináptica, lo que ayudaría a explicar parte del efecto antidepresivo de la ketamina. Siendo además muy

interesante el resultado de que, aparentemente, ambas dosis, provocarían los mismos efectos.

Sin embargo, también hay que destacar que no se producen los mismos resultados en ambas estructuras, la explicación de este efecto ha sido discutida por autores como Popp et al. (2016) y R. J. Liu et al. (2017). En sus trabajos atribuyen que estas diferencias en la fosforilación de las proteínas entre estructuras, concretamente entre el HPC y PFC, podrían deberse a múltiples variables, entre ellas la preparación del tejido o el estrés al que esté sometido durante el proceso de Western. Por lo tanto, no podemos descartar que nuestros resultados también se deban a estos factores o a otros que no podemos controlar.

Tanto la dosis de 5 mg/kg como la de 30 mg/kg producen cambios en la actividad eléctrica del circuito HPCd-vmPFC, pero con un perfil temporal diferente, siendo de mayor duración y magnitud aquellos provocados por la dosis alta

En los experimentos anteriores hemos testado la hipótesis de que la ketamina provocará cambios comportamentales y moleculares reflejo de su potencial antidepresivo y psicomimético, de magnitud y duración diferente según la dosis empleada, y del sexo de los animales. Como conclusión, podemos afirmar que ambas dosis estudiadas tendrían potencial antidepresivos equivalente entre sexos y con la misma duración (hasta 24 horas). Sin embargo, la dosis alta provocaría un efecto psicótico mayor, especialmente en machos. También parece que ambas dosis inducen los mismos cambios a nivel de expresión de proteínas relacionadas con plasticidad, de manera que el sustrato molecular de estas mejoras a nivel conductual sería: el incremento de las formas activas de Akt, ERK y mTOR en el HPC, y de ERK en vmPFC, así como de las ratios con sus formas no fosforiladas.

Sin embargo, además de los de tipo molecular y conductual, otro tipo de biomarcadores que se estudian los últimos años, tanto de la patología de la depresión como de sus tratamientos, son aquellos de tipo eléctrico. Algunos estudios muestran que cambios en las oscilaciones alfa (Wheeler et al., 1993; Neuper & Pfurtscheller, 2001; Saletu et al., 2010; Jaworska et al., 2012; Smart et al., 2015), el ritmo theta (Mayberg et al., 1999; Knott et al., 2000; Coutin-Churchman & Moreno, 2008; Pizzagalli, 2010; Köhler et al., 2011; Fernández-Palleiro et al., 2019) y las oscilaciones gamma (30-200 Hz. Strelets et al., 2007; P. S. Lee et al., 2010; T. Y. Liu et al., 2014; Fitzgerald & Watson, 2018), entre otras, que podrían representar buenos biomarcadores de la enfermedad, y también del potencial antidepresivo de la ketamina. Aun así, todavía hace falta mucha investigación para poder hacer una buena traslación de este tipo de resultados a la clínica. En cuanto a otros aspectos afectados por la depresión, es bien sabido que la depresión altera la estructura del sueño (Nutt et al., 2008; Hutka et al., 2021) y que los antidepresivos en general, y la ketamina en particular, mejoran estas disfunciones (Feinberg & Campbell, 1993; I. G. Campbell & Feinberg, 1996; Ahnaou et al., 2017; Duncan et al., 2019).

Por todo ello, una vez establecidas las dinámicas temporales a nivel conductual de los efectos psicótico y potencialmente antidepresivo de las dosis de 5 y 30 mg/kg, decidimos estudiar el efecto de estas dosis sobre la de actividad eléctrica de dos áreas implicadas en depresión: la corteza ventromedial (vmPFC) y el hipocampo dorsal (HPCd) a los mismos tiempos que los analizados en los experimentos anteriores, además de analizar la arquitectura del sueño. El estudio de la actividad eléctrica subyacente a la manifestación de las conductas psicóticas y “de tipo antidepresivo” y del sueño nos permitirá proponer biomarcadores de ambos estados. En esta ocasión, partíamos de la hipótesis de que: la administración de ketamina induciría cambios en la actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC, a la vez que también modificaría la arquitectura del sueño. Además, pensamos que estos cambios serán dependientes de la dosis

administrada, y podrán correlacionarse con el efecto antidepresivo/psicótico.

Así, en el experimento III, registramos la actividad eléctrica del HPCd y la vmPFC machos de ratón: antes de administrar ninguna sustancia (registro basal), tras inyectar salino (registro salino), tras administrar 5 o 30 mg/kg según el grupo (registro ketamina), y a las 24 horas y los 7 días tras esta administración. Los registros basal, salino y ketamina se llevaron a cabo en días consecutivos. Es importante destacar que en este experimento (así como el realizado en el experimento V), además del sueño, se ha estudiado la actividad eléctrica durante la vigilia tranquila (estados [3]). El objetivo es proponer biomarcadores durante este estado que puedan favorecer el diagnóstico en pacientes cuando están despiertos, lo cual es metodológicamente más sencillo y también menos agresivo para ellos.

La ketamina altera rápidamente y de forma duradera la potencia de las oscilaciones en HPCd y vmPFC, el balance excitación/inhibición y el acoplamiento fase-amplitud en HPCd y en vmPFC, además de la comunicación entre ambas áreas

Como se ha descrito en las secciones anteriores, el estudio de la variaciones en la potencia de las oscilaciones cerebrales del balance excitación/inhibición y el acoplamiento fase-amplitud se realizó en clústers de tiempo extraídos de manera no supervisada, con el fin de comprobar, de manera objetiva, la evolución temporal de cada cambio observado.

Estos análisis indicaron que la dosis alta da lugar a cambios de mayor duración que la baja, pero que los tiempos de afectación son similares entre estructuras: la dosis de 5 mg/kg induce cambios a corto plazo, que se restringen al primer clúster, es decir, a los primeros 10 minutos tanto en vmPFC como en HPCd. Sin embargo, en el caso de la dosis de 30 mg/kg, en ambas estructuras se observan cambios inmediatos tras la administración de ketamina que, en el caso de HPCd, se pueden mantener durante todo el registro, y en vmPFC se darían hasta los 70 minutos (dependiendo de la variable analizada). Además, se vio que algunos cambios se producían en las dos estructuras, y otros eran específicos de una sola.

En concreto, tras la administración de la dosis de 5 mg/kg, se observaron en HPCd disminuciones no significativas de la potencia SW y beta y aumentos significativos de theta bajo (acompañados del desplazamiento de la frecuencia dominante hacia este rango) y gamma bajo; en vmPFC, solamente aumentó el gamma alto (y las HFO, aunque de manera no significativa).

Al administrar la dosis de 30 mg/kg, curiosamente, se registraron casi los mismos efectos durante el 1^{er} clúster (10 minutos), que los originados por la dosis baja durante este periodo de tiempo: en HPCd aumentó el theta bajo (con disminución de la frecuencia dominante hacia esta frecuencia) y de manera no significativa el alto y el gamma bajo. En vmPFC se produjo una disminución de SW, y un aumento no significativo de gamma bajo. Además, es importante destacar que, a partir de los 10 minutos iniciales tras la administración de la dosis alta, los cambios son similares en ambas estructuras: disminuyen las frecuencias lentas (SW + Delta) hasta los 40 minutos en vmPFC (2^o y 3^{er} clúster) y hasta los 60 en HPCd (2^o clúster). En el HPCd también se produce una disminución de la potencia beta durante este 2^o clúster, hasta los 60 minutos, a la vez que aumentaron las frecuencias gamma (gamma medio y alto en HPC y solo alto en vmPFC) también durante un tiempo similar (en HPC hasta los 60 minutos [2^o cluster], y en vmPFC hasta los 40 minutos [2^o y 3^{er} cluster]).

Además de las variaciones obtenidas en la potencia, el acoplamiento fase-amplitud también se vio modificado. Concretamente, la dosis de 5 mg/kg provocó aumentos del acoplamiento

durante los 10 minutos iniciales, siendo en HPCd significativos aquellos ocurridos entre las frecuencias theta y las HFO. En vmPFC también ocurrieron cambios significativos, sin embargo, estos fueron disminuciones en muy pocas regiones y situadas sobre todo en el gamma bajo. Por su parte, la dosis de 30 mg/kg volvió a incrementar de manera significativa la comodulación en entre las oscilaciones Theta-HFO en el HPCd. Pero en esta ocasión también lo hizo el SW-gamma bajo, a la vez que disminuía el acoplamiento SW/Theta bajo-gamma medio. En esta ocasión si que se manifestaron cambios en el acoplamiento de vmPFC durante los 10 minutos iniciales. Concretamente, se observaron incrementos entre el Theta-gamma bajo, alto y HFO, a la vez que ocurrían disminuciones en las SW y el gamma alto. Además, en vmPFC, también se registraron cambios más allá de estos 10 minutos, concretamente disminuciones en theta y con gamma alto y HFO hasta el 3^{er} clúster.

Además, la ketamina alteró el balance excitación/inhibición. Concretamente, la dosis baja produjo un aumento de la excitación durante los 10 primeros minutos en ambas áreas, que rápidamente se normalizó. Por el contrario, la dosis alta produjo que esta alteración se mantuviera durante todo el registro en HPC y hasta los 70 minutos en vmPFC. Aunque en esta última, el inicio comenzó tras los 10 primeros minutos.

Empleando la estructura temporal (clústers) de vmPFC, se observó que la dosis baja daba lugar a aumentos del PLV en theta bajo solamente durante el primer clúster. Como consecuencia de inyectar la alta, también se vieron incrementos en esta variable, en frecuencias theta bajo (que durarían aproximadamente hasta el 4^o clúster), pero estos no alcanzaron la significación estadística en las pruebas *post hoc*; gamma bajo (únicamente durante el 1^{er} clúster). El acoplamiento en fase en gamma medio también se incrementó y en ese caso durante mucho tiempo (1^{er}, 2^o y 3^{er} clúster), mientras que en beta estaba por debajo del basal a partir del 2^o clúster y también durante el 3^{er} (hasta los 70 minutos).

También se vieron descensos de información mutua general (no significativos) y de SW en el primer clúster como efecto de la dosis baja. Al administrar la alta, durante el primer clúster disminuyó esta variable en todos los rangos de frecuencia, pero no en la información mutua general (sin filtrar). Tras este periodo inicial, la información mutua de SW se normalizó, mientras que el resto (general, theta bajo, alto y beta) se mantuvieron por encima de los niveles basales durante más tiempo: el theta alto, hasta 3^o clúster; el beta, durante el 2^o, 3^{er} y 4^o clúster; y la general durante todo el registro. Por su parte la información mutua en el theta bajo, se normalizó en el 3^{er} clúster y disminuyó, por debajo de los niveles basales en el 4^o y el 5^o.

Las oscilaciones gamma

Parece pues, que un efecto destacado al que las dos dosis dan lugar es un aumento de las frecuencias rápidas gamma, en ambas estructuras, tanto durante el primer periodo (10 minutos), como en el caso de la dosis alta también a partir de este. Además, parece que los valores de gamma en ascender en primer lugar serían los del rango más bajo (al menos en HPCd) y a partir de ahí, la dosis alta provocaría efectos más persistentes (60 minutos en HPCd y 40 en vmPFC) y sobre frecuencias de gamma del rango medio y alto.

Estos resultados sobre aumentos en gamma son coherentes con la bibliografía. En los últimos años se han publicado un gran número de estudios que demuestran que la administración aguda de ketamina, a dosis antidepressivas, provoca aumentos rápidos en estas oscilaciones (Gilbert & Zarate, 2020) tanto en animales (Pinault, 2008; Y. Zhang et al., 2012; Anderson et al., 2014; Jones et al., 2014) como en humanos (Rivolta et al., 2015; Shaw et al., 2015; Nugent et al.,

2020).

Además, estos aumentos se han detectado en un espectro amplio de regiones del cerebro, por ejemplo, en la corteza (Hakami et al., 2009; Ahnaou et al., 2017; Manduca et al., 2020), en el HPC (Hakami et al., 2009; Caixeta et al., 2013), en el NAc (junto al estriado ventral y el dorsal. Hakami et al., 2009; Kittelberger et al., 2012; Ye et al., 2018, la amígdala (Hakami et al., 2009), y los ganglios basales (Hakami et al., 2009; Nicolás et al., 2011). En humanos, los estudios también han reflejado aumentos agudos en la potencia gamma, sobre todo en áreas corticales (Hong et al., 2009; Muthukumaraswamy et al., 2015; Rivolta et al., 2015; Shaw et al., 2015; Grent-'t-Jong et al., 2018; Nugent et al., 2019) aunque también subcorticales (Shaw et al., 2015; Grent-'t-Jong et al., 2018) al administrar ketamina. Además, en toda la bibliografía citada anteriormente se han descrito aumentos en frecuencias similares a las nuestras, todas ellas situadas entre los 30 y los 200 Hz del rango gamma.

También se ha visto, que la duración de estos efectos es dependiente de la dosis administrada, tal y como nosotros observamos. En el trabajo de Qi et al. (2018) se describen evoluciones temporales en PFC de aumentos de gamma distintos, al administrar ketamina a dosis crecientes entre los 15 mg/kg y los 120 mg/kg. En su estudio, también utilizaron una dosis de 30 mg/kg, de la cual se reportó que daba lugar a un incremento de la potencia gamma similar al nuestro, siendo en su caso hasta los 55 minutos, aproximadamente. Otros estudios también han mostrado incrementos de gamma que van desde la administración hasta los 30 min (Ahnaou et al., 2017 la temporalidad de estos efectos también son dosis-dependientes) o hasta la hora (Kittelberger et al., 2012).

Además, parece que el pico máximo de potencia gamma bajo, tras la administración de ketamina suele ocurrir a los 8 minutos de su administración (Hakami et al., 2009), lo que parece coincidir con el pico de máxima concentración del fármaco en el cerebro (Das, 2020), y a partir de este momento desciende, al igual que observamos nosotros en nuestro trabajo. En nuestro caso, observamos que este aumento del gamma bajo precede al de las frecuencias de gamma medio y alto. Estos resultados son difíciles de contrastar con la bibliografía ya que la mayoría de los autores tienden a medir la potencia gamma de rangos muy amplios de frecuencia, aunque en los resultados de Ye et al. (2018), los espectrogramas obtenidos tras la administración de ketamina también parecen mostrar este efecto. Este dato es relevante porque, tal y como se explicará posteriormente, este perfil podría relacionarse con los diferentes estadios a nivel conductual y/o también a nivel de expresión de moléculas de plasticidad.

Los análisis de acoplamiento en fase de nuestro trabajo también muestran valores elevados de PLV en diferentes rangos gamma el mismo periodo de tiempo que están aumentadas las potencias de estas oscilaciones, pero únicamente al administrar la dosis alta, lo que estaría reflejando una sincronía de estas oscilaciones entre estructuras (Spencer et al., 2009; Anver et al., 2010).

Cambios en otras oscilaciones: delta, theta y beta

Las alteraciones puestas de manifiesto en nuestros experimentos respecto del rango SW (disminuciones), también son coherentes con la literatura, que confirma que el aumento en la potencia gamma originado por la administración de ketamina suele ir acompañado de descensos de la potencia de las oscilaciones de más baja frecuencia (Amat-Foraster et al., 2018; Kohtala et al., 2019; Gilbert & Zarate, 2020), en concreto, de SW y delta, y principalmente en diferentes áreas de la corteza (Hong et al., 2009; Kohtala et al., 2019; Mahdavi et al., 2020; Manduca et al., 2020).

Resulta interesante que nuestros resultados ponen de manifiesto que además de la reducción en potencia de estas oscilaciones, también se produce un descenso en la información mutua en esas frecuencias (tras la administración de ambas dosis). Esta variable refleja, como su nombre pretende indicar, la cantidad de información que están intercambiando dos estructuras. Tal y como explicaron Massimini et al. (2004), las oscilaciones lentas se describen como ondas viajeras, generadas por la corteza (Steriade, Contreras et al., 1993; Steriade, McCormick & Sejnowski, 1993; Steriade & Timofeev, 2003) y que permitirían la coordinación de áreas alejadas de esta, o con otras estructuras. Por lo que su disminución observada en nuestro trabajo implicaría no solo una disminución de la potencia, sino, además, una afectación a nivel de comunicación, es decir, una descoordinación entre ambas estructuras como efecto de la administración de la ketamina (Murphy et al., 2009; Roohi-Azizi et al., 2017; Dash, 2019).

En cuanto a la oscilación theta, nuestros análisis reflejan un desplazamiento de la frecuencia dominante de en este espectro de frecuencias hacia frecuencias más bajas, concretamente las situadas en el rango 3-6 Hz, a la vez que aumentos de la potencia de este rango durante el primer clúster, tras la administración de ambas dosis. Sin embargo, este es un efecto que se produce exclusivamente en el hipocampo.

Los resultados encontrados en la bibliografía en cuanto a los efectos de la ketamina sobre la oscilación theta son contradictorios; se han observado tanto aumentos (Caixeta et al., 2013; Curic et al., 2021) como disminuciones (Lazarewicz et al., 2010; Neymotin et al., 2011; Caixeta et al., 2013) en el HPC, y aumentos en la corteza (Manduca et al., 2020) de roedores. En humanos, encontramos el mismo perfil de incrementos o disminuciones según el área (Muthukumaraswamy et al., 2015; Nugent et al., 2020).

Un dato interesante es que se ha observado es que las dosis subanestésicas de ketamina, así como la administración de otros antidepresivos, aumentan la potencia theta en pacientes deprimidos que responden a este tratamiento a diferencia de aquellos que no lo hacen (Korb et al., 2009, 2011; Cao et al., 2019). En este sentido también se ha visto que la administración aguda de ketamina puede provocar el desplazamiento de la frecuencia dominante de las oscilaciones alfa (8-14 Hz. Ahnaou et al., 2017) cuyo rango en humanos coincidiría, en parte, con el rango theta en animales. Por ello, parece interesante seguir profundizando en el estudio de esta oscilación como posible indicador del efecto del tratamiento con ketamina.

Las medidas de PLV en esta oscilación muestran un aumento significativo de esta variable en theta bajo durante el primer clúster por efecto de la dosis baja y no significativo por la dosis alta. Estos resultados en conjunto podrían significar que la actividad en theta de HPCd está aumentada y acoplada en fase entre las estructuras. Sin embargo, los análisis sobre información mutua en theta indican que esta disminuye, en ambos rangos de esta oscilación, en el primer clúster (cuando la potencia es elevada) y sube cuando la potencia se normaliza en ambas dosis (2º clúster: theta bajo y alto con la dosis alta; y 3º clúster, theta alto con la dosis alta). Es decir, parece que los cambios en comunicación no coincidan con los cambios en potencia.

Una posibilidad para explicar estos resultados es que los cambios en las variables potencia e información mutua no se den simultáneamente de manera fisiológica, por ejemplo, podría ocurrir que hasta que los valores de potencia no son suficientemente elevados no se traduce en un aumento de la comunicación. Esto iría en concordancia con la teoría de la “comunicación a través de la coherencia” propuesta por Akam & Kullmann (2012), según la cual, hasta que no se producen determinados cambios dentro de una estructura (como por ejemplo el incremento de la potencia) no se establecerá una comunicación eficiente con otras estructuras dentro de la misma red (Bonfond et al., 2017). También podría ocurrir que la simultaneidad no haya

quedado reflejada en los cálculos, debido, por ejemplo, a que se ha empleado la organización en clústers de la corteza, pero los cambios en theta se ven en hipocampo, o a otros aspectos de los cálculos.

En cualquier caso, consideramos que las tres variables podrían estar relacionadas, de manera que el aumento de potencia en theta bajo iría acompañado del aumento de PLV y podría preceder al de información mutua. Es decir, se produciría un incremento de la potencia en HPCd, que estaría más sincronizado con el theta de vmPFC y, además, se incrementaría el intercambio de información entre estas regiones empleando este “lenguaje” en theta.

Por último, con respecto a las frecuencias beta, vemos que su potencia se ve afectada únicamente en HPCd, en concreto la dosis baja la reduce de manera no significativa, y la alta de manera significativa a partir del 2º clúster, durante 50 minutos, aproximadamente. Hay pocos trabajos que indiquen cambios en estas frecuencias, pero los hay que muestran cambios similares a los nuestros, es decir que, tras la administración de ketamina, también disminuye la potencia de esta banda (Rivolta et al., 2015; Akeju et al., 2016; Ma et al., 2018). Con respecto al PLV de las oscilaciones beta, observamos disminuciones a partir del segundo clúster por la dosis alta. Es decir, parece que la pérdida en potencia va acompañada de una desincronización entre estructuras de esta oscilación, al menos como efecto de la administración de esta dosis. Además, también hemos visto disminuciones significativas en la información mutua en este rango de oscilación durante el primer clúster de HPC, seguidos de aumentos a partir del segundo y esta variable se mantiene elevada casi todo el registro por efecto de la dosis alta.

La administración de ketamina tiene un efecto sobre el balance excitación/inhibición de magnitud y perfil temporal dependientes de la dosis

Otro aspecto relevante relacionado con la administración de ketamina es que se sabe que altera el balance entre excitación/inhibición (Lener et al., 2017; Zanos & Gould, 2018; Zanos et al., 2018; Jelen & Stone, 2021) y que este puede medirse, tal y como se ha explicado previamente, a partir de la potencia de gamma bajo (R. Gao et al., 2017). En nuestro trabajo hemos visto aumentos en la excitabilidad tanto en vmPFC como en HPCd, y cuya duración depende de la dosis utilizada. Concretamente, cuando se administra la dosis baja, la excitación neuronal aumenta, pero de manera breve y está restringida únicamente al primer clúster (10 primeros minutos tanto en HPCd como en vmPFC). Por el contrario, tras administrar la alta los efectos son más prolongados, abarcando todo el registro en HPCd y hasta los 70 minutos en vmPFC.

Este cambio en la relación excitación/inhibición podría deberse al mecanismo de acción de la ketamina. Así, la unión de la ketamina a los receptores NMDA de las neuronas GABAérgicas provoca una disminución de la inhibición de estas neuronas sobre las piramidales, lo que generaría un disparo incontrolado (o una desinhibición) de estas últimas, (Lener et al., 2017; Zanos & Gould, 2018; Zanos et al., 2018; Jelen & Stone, 2021), lo que finalmente se traduciría en el incremento de potencia de las oscilaciones gamma (Homayoun & Moghaddam, 2007; Carlén et al., 2011). Además, revisiones como la de Bartos et al. (2007) han confirmado neuronas GABAérgicas, del tipo parvoalbúmina positiva (a las que se suele unir la ketamina; O. H. Miller et al., 2016; Zanos & Gould, 2018), estarían implicadas, a través de los ciclos de excitación/inhibición que mantienen con las neuronas piramidales, en la producción de las oscilaciones gamma (Gonzalez-Burgos & Lewis, 2008; Chen et al., 2014; Kujala et al., 2015).

Es interesante observar, como se dijo anteriormente, que la dosis de 5 mg/kg provoca una excitación neuronal de menor duración que la de 30 mg/kg. La explicación de este efecto podría consistir en que, a mayor dosis, mayor tiempo requerido para la metabolización del

compuesto y, por tanto, tiene lugar un efecto más prolongado. No se han encontrado estudios que muestren las concentraciones en tejido cerebral con nuestras dosis. Sin embargo, se ha visto que al administrar 10 mg/kg a los 10 min existe una concentración 5-6 $\mu\text{M/g}$ (Zou et al., 2009; Lilius et al., 2015; Zanos et al., 2016) y esta disminuye rápidamente. Sin embargo, tras una dosis de 40 mg/kg a los 10 minutos hay en el cerebro de $137 \pm 6 \mu\text{M/g}$ y no es hasta los 240 min cuando la concentración alcanza niveles a los obtenidos antes de la administración de ketamina ($0.6 \pm 0.1 \mu\text{M/g}$; Paul et al., 2014). Por lo tanto, los cambios en la concentración de la ketamina podrían explicar el mayor efecto temporal en el balance excitación/inhibición de la dosis alta sobre la baja.

Otra de las diferencias importantes entre ambas áreas, con respecto a esta variable, es el hecho de que el balance entre la excitación/inhibición neuronal se altera de manera más rápida y con una mayor duración en el HPCd que en la vmPFC. Aunque no conocemos las razones por la que esto se produce, es posible que este efecto pueda deberse a varias variables como por ejemplo: el porcentaje de neuronas GABAérgicas presentes en cada una de áreas (Ghosal et al., 2017; Pelkey et al., 2017); el número de astrocitos y sus conexiones (H. S. Lee et al., 2014; Couillard-Despres & Kirischuk, 2022); o la cantidad y tipo de receptores cada estructura (Couillard-Despres & Kirischuk, 2022).

La administración de ketamina afecta al acoplamiento fase amplitud en vmPFC y en HPCd

La administración de ambas dosis de ketamina también alteró el acoplamiento fase-amplitud dentro de las estructuras estudiadas. Estos cambios fueron, igual que en el resto de las variables electrofisiológicas, dependientes de la dosis administrada y del área estudiada.

La dosis de 5 mg/kg dio lugar en el HPCd a un aumento del acoplamiento entre el theta bajo y las HFO, aunque solo durante el 1^{er} clúster. Por el contrario, en vmPFC, apenas se produjeron cambios (disminuciones de la comodulación theta - gamma bajo) y también solo durante el 1^{er} clúster.

En cambio, la dosis alta afectó a un rango más amplio de frecuencias. En HPCd disminuyó, especialmente, el acoplamiento de gamma bajo y medio a la SW; y, por el contrario, aumentó el acoplamiento de todo el espectro de oscilaciones gamma a las frecuencias theta (produciéndose los mayores aumentos en el rango HFO) y del gamma bajo a las SW (0.1-1 Hz). Igual que tras administrar la dosis baja, estos cambios ocurrieron de manera significativa únicamente durante el primer clúster. En la vmPFC, se registraron cambios generalizados del acoplamiento a las frecuencias SW, que aparentemente eran aumentos del gamma bajo, medio y de las HFO, aunque solo fue significativo el aumento de las frecuencias 1-2Hz con las HFO, y una disminución del de gamma alto a 0.1-1 Hz. Además, también se incrementó la comodulación de todas las frecuencias gamma al theta, siendo significativos los aumentos entre el theta alto y las HFOs. Estos aumentos ocurrieron durante el primer clúster ya que, durante el 2^o y el 3^{er} clúster, el patrón cambió y la comodulación disminuyó por debajo de los niveles basales (theta-gamma alto y HFO), hasta el 4^o, que volvieron a niveles basales. De manera general, tanto en HPCd como en vmPFC, son de mayor magnitud los aumentos que las disminuciones.

El incremento del acoplamiento delta-gamma y theta-gamma en corteza se ha descrito como una característica común del mecanismo de acción de varios agentes anestésicos, entre ellos la ketamina (Pal et al., 2017) pero el efecto de dosis subanestésicas y potencialmente antidepressivas de la ketamina sobre el acoplamiento fase-amplitud no está muy estudiado. Sin embargo, algunos trabajos muestran resultados similares a los nuestros, es decir, aumentos en el acoplamiento fase-amplitud (que relacionan con estado psicótico). Por ejemplo, Caixeta et al. (2013),

describen incrementos del acoplamiento fase-amplitud de frecuencias rápidas a la oscilación theta en el HPC tras la administración de diferentes dosis de ketamina (25, 50 y 75 mg/kg), así como Michaels et al. (2018), tras el uso de 30 mg/kg de ketamina. De manera similar, en el trabajo de Ahnaou et al. (2017) también se registran aumentos de este acoplamiento en zonas anteriores de la corteza de ratas y tras la inoculación de 5 y 10 mg/kg de ketamina. Pero como decimos, es un parámetro sobre el que aún hay mucho que estudiar, sobre todo para entender su significado.

La administración de ketamina aumenta el sueño de ondas lentas 24 horas después de su administración

La administración de ambas dosis de ketamina aumentó el SWS de manera significativa 24 horas después de su administración, y este incremento fue acompañado de un descenso de la proporción de sueño REM durante el mismo día, aunque este cambio solamente alcanzó la significación estadística al administrar la dosis de 5 mg/kg. La dosis de 30 mg/kg parece dar lugar a un incremento del SWS a los 7 días, aunque este efecto no fue estadísticamente significativo.

Los cambios en la estructura del sueño son un resultado interesante de nuestro trabajo, y coherente con un gran número de publicaciones que demuestran la eficacia de las terapias farmacológicas antidepresivas en mejorar la arquitectura del sueño y en inducir aumentos del SWS. Este efecto se ha observado tanto tras administrar antidepresivos clásicos, como nuevos, tales como la ketamina. Por lo que este dato corrobora a nivel electrofisiológico el efecto antidepresivo de las dosis que hemos estudiado en nuestros experimentos.

Por un lado, los trabajos de S. J. Wilson et al. (2002, 2004) y C. Bell et al. (2003) demostraron la eficacia de diferentes antidepresivos clásicos como son la fluoxetina (antidepresivo SSRI), la paroxetina (SSRI) y la dosulepina (antidepresivo tricíclico) en pacientes sanos. Los resultados de los estudios indican que los tres antidepresivos clásicos tienen un efecto supresor en el sueño REM, y aumentan el SWS, siendo la dosulepina de acción más temprana. Sin embargo, todos estos fármacos han demostrado tener también efectos negativos ya que, tras algunas semanas de tratamiento, la cantidad de REM se recupera. Incluso, en el caso de la dosulepina, aumentaba la fragmentación del sueño. Además, se ha visto, que antes de ejercer sus efectos beneficiosos, tanto los ISRS, como los IMAO y antidepresivos tricíclicos muestran incrementan la latencia a dormir y de la fase 1 del sueño (Argyropoulos & Wilson, 2005; DeMartinis & Winokur, 2008).

Por su parte, la ketamina también se ha mostrado eficaz en lo que se refiere la supresión del sueño REM y el aumento del SWS, pero a diferencia de los antidepresivos clásicos, aún no se conoce ningún efecto secundario (tal vez debido a la poca información que se tiene todavía). Ya en 1993 y en 1996 Feinberg y Campbell ya observaron cómo en ratas antagonistas de los receptores NMDA, entre ellos la ketamina, promovían cambios durante el SWS, entre los que se encontraban el incremento del sueño de ondas lentas y la potencia de las oscilaciones delta durante este. Años más tarde, diversos autores como Gottschlich et al. (2011), Duncan et al., 2013a, 2013, 2017 y Voort et al. (2017) observaron estos mismos efectos humanos.

Sin embargo, el mecanismo por el cual la administración de ketamina da lugar a estos cambios aún no ha podido ser explicado. Algunos autores han postulado que su acción sobre el sueño podría estar relacionada con cambios en moléculas relacionadas con los genes reloj (Bellet et al., 2011; Duncan et al., 2017), el incremento de BDNF (Duncan et al., 2013), cambios en la transmisión colinérgica del LC y su papel en el inicio del sueño REM (Lydic & Baghdoyan, 2002) o cambios del ritmo circadiano a través de la LHb (Kohtala et al., 2021). De ahí lo

interesante de llevar a cabo estudios en los que se evalúen simultáneamente efectos a diferentes niveles (electrofisiológico, molecular, conductual, etc).

Las oscilaciones cerebrales como sustrato de los efectos psicóticos de la ketamina

Los experimentos I, II y III fueron diseñados de manera que se pudiera establecer correlaciones entre los resultados obtenidos en cada uno de ellos. Así, la actividad eléctrica registrada tras la administración de 5 y 30 mg/kg de ketamina en el experimento III podría interpretarse como el sustrato electrofisiológico de la conducta descrita en el experimento I, en concreto, la observada en machos. Aquellos datos revelaron que, la dosis de 5 mg/kg estaría produciendo efectos psicóticos durante casi el total de los 10 minutos de duración del test, mientras que la de 30 mg/kg casi con toda seguridad, más allá de estos 10 minutos, y ambas tendrían potencial antidepressivo a las 2 y las 24 horas.

Por lo tanto, teniendo en cuenta la estructura temporal en la que se manifiestan los efectos de la ketamina sobre la actividad eléctrica, que ha revelado el análisis de clústers del experimento III, los cambios observados durante el primer clúster se corresponderían con el tiempo en que los animales estarían manifestando las conductas de tipo psicótico. Con respecto a los clústers siguientes, como hemos descrito, no sabemos qué duración tiene la expresión del estado psicomimético, por lo que la actividad registrada en ellos correlacionaría parcialmente con estas conductas, pero quizá también con su fin y podría preceder, desencadenar o incluso subyacer a la conducta de tipo “antidepressivo” que observamos a las 2 horas. Esto es porque, aunque nosotros la evaluemos a este tiempo, no podemos descartar que pudiera manifestarse antes, ya que otros autores han demostrado su expresión a los 30 minutos con una dosis de 10 mg/kg (Kara et al., 2017) y de 50 mg/kg (Popik et al., 2017). Para interpretarlo con más detalle habría que estudiar conductas psicomiméticas y “de tipo antidepressivo” entre los 10 minutos y las 2 horas.

Como hemos detallado en el apartado anterior de la discusión, durante el primer clúster se producen aumentos de frecuencias gamma, concretamente aquellas de frecuencia baja (HPCd con la dosis baja, y ambas con la dosis alta) y las altas y HFO (en vmPFC con la dosis baja). Como ya hemos descrito anteriormente en la discusión, existe mucha bibliografía que demuestra que tras la administración de ketamina se produce un incremento de la actividad gamma. En concreto, esta actividad ha sido definida como aberrante (Caixeta et al., 2013; Shaw et al., 2015; Ahnaou et al., 2017) y se interpreta como el posible sustrato de la actividad psicótica (Hong et al., 2009; Caixeta et al., 2013; Ahnaou et al., 2017; Gilbert & Zarate, 2020; Curic et al., 2021) y de estados disociativos y psicomiméticos transitorios que se asemejan a los síntomas de la esquizofrenia (Krystal et al., 1994; Beck et al., 2020). En coherencia, se han demostrado anomalías en la banda gamma en pacientes con trastornos psicóticos, que parecen estar causadas por una hipofunción de los receptores NMDA (para una revisión ver Farber, 2003).

Parece que niveles elevados de oscilación reflejarían disfunciones en la integración consciente generando los efectos disociativos y psicomiméticos (Pinault, 2008). De hecho, la potencia gamma de la red en reposo se encuentra aumentada en pacientes de esquizofrenia, lo que se interpreta como un “ruido” de base en el cerebro (R. S. White & Siegel, 2016) que dificultaría la integración de estímulos. De manera similar, también Moran et al. (2014) describieron este gamma generado por la ketamina, como un “ruido” celular de las neuronas piramidales, que interrumpiría el procesamiento de la información. Además, un estudio reciente (Qin et al., 2023) confirmó, en un modelo de rata, ambos efectos (el incremento del “ruido” y la respuesta

deficiente a los estímulos) tras la administración de ketamina.

Por lo tanto, parece que los incrementos en gamma observados en nuestro trabajo podrían subyacer, en efecto, al estado psicótico observado a nivel comportamental.

Además, es muy interesante que también se han relacionado con la presencia de alucinaciones, no solo los aumentos en la potencia de la oscilación, sino la sincronización en esta banda en diferentes estructuras (Spencer et al., 2009; Anver et al., 2010) y estos aumentos de acoplamiento se han visto facilitados, específicamente, por el bloqueo y la hipofunción de los receptores NMDA (Caixeta et al., 2013). Estos datos son similares a nuestro resultado acerca de un incremento de PLV en gamma como consecuencia de la administración de ketamina. Por lo tanto, este aumento del acoplamiento de fase (PLV) podríamos considerarlo consecuencia de la desinhibición generalizada originada por la ketamina sustrato de efecto psicótico y no reflejo de coordinación entre estructuras como base de una función cognitiva, de manera acorde a como postulan algunos autores (Bauer et al., 2006; Siegel et al., 2008; Gregoriou et al., 2015; Y. Zhang et al., 2016).

Por otro lado, vemos disminuciones en la potencia de las SW, así como de la información mutua en estas frecuencias, especialmente en vmPFC. La corteza está implicada en la coordinación de múltiples redes funcionales (Ruiz-Mejias et al., 2011; Sanchez-Vives & Mattia, 2014; Hauer et al., 2019), a través de su actividad por defecto, la SW (Steriade, Contreras et al., 1993; Timofeev & Steriade, 1996; Sanchez-Vives & Mattia, 2014). Además, la disminución de SW se ha relacionado con un deterioro cognitivo en trastornos psicóticos como la esquizofrenia (Ergen et al., 2008; Ford et al., 2008; Bates et al., 2009; Doege et al., 2010; Başar & Güntekin, 2013). Por lo tanto, los cambios obtenidos en nuestro experimento, en relación con la SW también podría subyacer al estado psicomimético descrito a nivel comportamental y, por ello, no solo disminuiría la potencia de la oscilación, sino también el intercambio de información, es decir, la comunicación entre estructuras, en estas frecuencias.

Además, Mahdavi et al. (2020) describieron que al administrar ketamina en ratas anestesiadas se producía una reducción de la potencia delta (1-4 Hz) que fue interpretada por los autores como un incremento del *arousal* en la corteza, es decir a una excitación del animal propia de los estados de vigilia. Ya hemos descrito que, tras la administración de ketamina se produce un aumento de la excitación neuronal, por lo que es posible que esta disminución de las SW en HPCd y vmPFC tras la administración de la dosis de 30 mg/kg refleje también este estado de desinhibición neuronal, el cual se ha relacionado con la presencia de trastornos psicóticos (Tieges et al., 2013).

Por otro lado, durante este primer clúster, tras administrar la dosis baja, también encontramos en nuestro trabajo un aumento de la potencia theta, concretamente en el theta bajo, existiendo incluso un desplazamiento de la frecuencia dominante de la banda theta total hacia este rango de frecuencias. Además, ambas dosis parecen dar lugar a aumentos del PLV (significativo en la dosis 5 mg/kg) entre ambas estructuras en esta banda. Tradicionalmente, el incremento de la banda theta, sobre todo, las frecuencias bajas, han sido descritas en el HPC como biomarcador de procesos ansiosos y estresantes (Adhikari et al., 2010; Jacinto et al., 2013; Likhtik et al., 2014; Stujenske et al., 2014; Merino et al., 2021; Vila-Merkle et al., 2021), sobre todo cuando están relacionadas con las actividad de amígdala (Pelletier & Paré, 2004). De hecho, trabajos de nuestro grupo han demostrado estos aumentos en HPC, amígdala y PFC tras la administración de fármacos ansiogénicos (Vila-Merkle et al., 2021) o tras la infusión de CRH en DR (Merino et al., 2021), procedimiento que se ha validado como método para inducir estrés agudo (Forster et al., 2006).

En este sentido es interesante el exhaustivo metaanálisis de (R. S. Wilson et al., 2020) en el que se puso de manifiesto una alta relación entre ansiedad y primer episodio psicótico. Krystal et al. (1994) y años más tarde, (Nugent et al., 2019), también describieron cómo la ketamina en sujetos sanos provocaba un aumento de ansiedad. Por ello, sería posible que, durante este episodio psicótico transitorio observado en nuestro experimentos, los aumentos, tanto en potencia como en PLV en theta (bajo), reflejen el este componente ansioso de la psicosis.

Respecto de los incrementos en información mutua (en el rango theta), consideramos, como ya hemos discutido previamente que, aunque aparezcan más tarde (2º cluster), podrían estar en relación con el mismo fenómeno, reflejando un aumento de la información compartida entre estas estructuras para procesar este estímulo o situación ansiogénica. Los trabajos que apoyarían esta hipótesis son numerosos, como los de Adhikari et al. (2010, 2011), Padilla-Coreano et al. (2016, 2019) y Marques et al. (2022) que han encontrado aumentos en sincronización theta entre el HPC y la PFC como sustrato de conductas ansiogénicas.

En concreto, Adhikari y colaboradores en sus trabajos (2010, 2011) describieron aumentos de la sincronización, medida a través de la coherencia y acoplamiento de fase, en las frecuencias theta entre el HPCv y la mPFC, cuando los animales eran expuestos a tareas que incrementaban los niveles de ansiedad, como el laberinto elevado en cruz. Posteriormente, Padilla-Coreano y colaboradores (2016, 2019) también demostraron una sincronía entre estas áreas en oscilación theta, e incluso comprobaron que la inhibición de la sincronía theta entre ambas, a través de técnicas de optogenética, disminuía la ansiedad en el test *Openfield*. Y más recientemente, Marques et al. (2022) en su estudio identificaron un mayor tránsito de información en theta entre estas estructuras en situaciones de estrés y, de manera específica, con un direccionalidad, de HPC hacia PFC.

Por otro lado, encontramos una disminución y delimitada al primer clúster, de la información mutua general entre el HPCd y la vmPFC como efecto de ambas dosis, es decir que, de manera inmediata a su administración, la ketamina daña el intercambio de información entre estas estructuras. Como se dijo anteriormente, la corteza está implicada en la coordinación de múltiples redes funcionales (Ruiz-Mejias et al., 2011; Sanchez-Vives & Mattia, 2014; Hauer et al., 2019), y, través de su relación con el HPCd regularía funciones como almacenamiento y consolidación de la memoria (Benchenane et al., 2011). Se ha demostrado que estas funciones están afectadas en los pacientes con esquizofrenia (para una revisión ver Guo et al., 2018) por lo que las disminuciones en la información mutua de nuestro experimento podrían reflejar también otro de los efectos a nivel cognitivo asociado al estado psicótico inducido por la ketamina. Esto podría ir acorde con el hecho de un estado alterado, de tipo psicótico, durante este tiempo.

Durante el primer clúster se detectan también cambios, generalmente aumentos, en el acoplamiento fase-amplitud entre las frecuencias SW/Theta-gamma/HFO. Como se dijo anteriormente, tradicionalmente muchos autores han descrito el aumento de acoplamiento como el sustrato de mejora/procesos cognitivos (Canolty et al., 2006; Tort et al., 2009; Canolty & Knight, 2010). Sin embargo, según Gilbert & Zarate (2020) los aumentos agudos en la sincronía de las oscilaciones también pueden reflejar estados disociativos inducido por fármacos, en este caso estos serían reflejo de cambios disfuncionales en el procesamiento de información en neuronas piramidales. Por esta razón pensamos que durante estos primeros 10 min (tras la administración de la ketamina), mientras los animales están experimentando sintomatología psicótica, estos cambios en el acoplamiento no serían sustrato de alguna función cognitiva, sino del estado psicótico que están experimentando. Algunos estudios como el de Won et al. (2018) y el de T. H. Lee et al. (2020) demuestran esta hipótesis. Estos autores encontraron

un incremento del acoplamiento theta-gamma en pacientes que había sufrido un primer episodio psicótico o que habían sido diagnosticados con esquizofrenia cuando eran comparados con sujetos sanos.

Otro resultado a comentar es que a partir de los 10 minutos iniciales, los niveles de gamma (medio, en HPCd y alto, en ambas estructuras) se mantienen elevados durante 40 minutos en vmPFC y 60 en HPCd, pero solo con la dosis alta. Dicho esto, es importante tener en cuenta que a partir de los 10 minutos la ketamina comienza a metabolizarse rápidamente en norketamina y hidroxiketamina (Paul et al., 2014; Zanos et al., 2018) y se ha demostrado que estas formas hidroxiladas correlacionan negativamente con la sintomatología positiva de los trastornos psicóticos (Zarate et al., 2012). Además, estos metabolitos de la ketamina no tienen afinidad por los receptores NMDA, sino por los AMPA y producen incrementos en rangos de gamma altos no inmediatos, a partir de los 20 minutos (Zanos et al., 2016), aunque a día de hoy se desconoce el mecanismo por el cual estos receptores generan esta actividad (Bartos et al., 2007; Nugent et al., 2019). En cualquier caso, pensamos que el aumento de la actividad gamma de alta frecuencia que observamos a partir del primer clúster, podría estar producida por una activación progresiva de los receptores AMPA y reflejaría, por un lado, estado psicótico (no sabemos la duración exacta de este estado al administrar 30 mg/kg, aunque conocemos que empieza a disminuir a partir de los 9-10 minutos aproximadamente y ya no está presente a las 2 horas) pero tal vez también el efecto “antidepresivo”, que sabemos que podría empezar antes de las 2 horas.

En cuanto a las oscilaciones beta, como hemos dicho, se producen disminuciones no significativas en HPCd durante los primeros 10 minutos, como efecto de la dosis baja, que se consolidan al administrar la dosis alta durante el segundo clúster y van acompañadas de pérdida de la sincronización entre estructuras (disminución de PLV). Algunos trabajos han informado acerca de alteraciones en esta oscilación, concretamente disminuciones, en pacientes con esquizofrenia durante el desarrollo de tareas (G. P. Krishnan et al., 2005; Uhlhaas et al., 2006; Hirano et al., 2008; Uhlhaas & Singer, 2010, 2012; Ghorashi & Spencer, 2015; Liddle et al., 2016) o animales a los que se le ha administrado ketamina (Amat-Foraster et al., 2018; Ma et al., 2018). Estos cambios se han discutido principalmente como un deterioro en la memoria de trabajo y una pérdida de la conectividad funcional entre distintas regiones, lo que implicaría a su vez un déficit en la integración de la información (Muthukumaraswamy et al., 2015; Rivolta et al., 2015; Ma et al., 2018). Atendiendo a todo esto, las disminuciones que observamos en nuestro trabajo podrían relacionarse con alteraciones de tipo cognitivas relacionadas con el estado psicótico.

Por otro lado, otros autores, entre ellos nosotros, han visto incrementos en estas oscilaciones en HPCd, BLA e IL como resultado de la inducción de un estrés agudo (Merino et al., 2021) que han relacionado con activación de la amígdala en respuesta a miedo y ansiedad (Ribas et al., 2018). Y de hecho, las oscilaciones beta han sido propuestas como marcadores de ansiedad en humanos y procesos de estrés (Umar Saeed et al., 2018). Nosotros vemos disminuciones de potencia, pero a la vez detectamos aumentos a partir del siguiente clúster y hasta casi el final del registro, del intercambio de información en esta oscilación, lo que quizá podría reflejar el procesado entre las estructuras del componente estresante del evento.

Además de estas actividades, en el segundo clúster se observan aumentos de información mutua en theta en entre ambas estructuras que hemos relacionado antes con el aumento de potencia en esta banda en el primer clúster, como señal de estado ansioso. Es interesante ver que la información mutua general se mantiene a niveles por encima del basal durante todo el registro, seguramente reflejo de los aumentos de esta variable en esta banda theta y también en las frecuencias beta, como se ha nombrado anteriormente.

Por último, vemos que las SW permanecen en niveles menores al basal y continuaría la excitación neuronal, también a partir del segundo clúster, como efecto de la dosis alta, es decir, reflejarían el mantenimiento del estado de *arousal*, excitación y daño cognitivo (Mahdavi et al., 2020) durante más tiempo cuando la dosis es elevada.

Como conclusión, ambas dosis inducen durante 10 minutos: el aumento de las oscilaciones gamma en ambas áreas, la disminución de frecuencias beta hipocámpicas, la excitación neuronal, la disminución de la comunicación entre ambas estructuras y los aumentos de comodulación theta/HFO, sobre todo en el HPCd, lo que podrían ser correlatos del efecto psicótico, ya que se producirían a la vez que los efectos comportamentales psicomiméticos.

Junto a estos cambios, los aumentos de la potencia de oscilación theta bajo, unido al incremento del acoplamiento de fase en esta misma oscilación, producido por ambas dosis, podrían subyacer al componente ansioso que acompañaría al estado psicótico. Y quizá también los aumentos en información mutua en beta.

A partir de estos 10 primeros minutos los siguientes cambios ocurridos, solos por efecto de la dosis alta, podrían reflejar una continuación del estado psicótico, pero que progresivamente disminuiría. Estos cambios son: el incremento la potencia de las oscilaciones gamma, pero en este caso en rangos de frecuencias más altos; la continuación de la hipersincronización en el gamma medio; la disminución de la potencia SW (en ambas estructuras durante un tiempo similar) y beta en HPCd; y el mantenimiento de la excitación neuronal en ambas áreas.

A su vez, la dosis alta produciría un descenso de las SW, un incremento del acoplamiento de fase entre las oscilaciones gamma bajas y medias, lo que hemos definido anteriormente como una hipersincronización entre las estructuras. Todos estos cambios estarían presentes durante aproximadamente 1 hora. Por lo que posiblemente también sean un reflejo también del estado psicótico, sin embargo, para afirmar esto habría que comprobarlo con más experimentación.

Tendría sentido que, la mayor duración del estado psicótico implique a su vez un efecto ansiogénico más sostenido en el tiempo, por lo que los aumentos de la información mutua entre las estructuras en theta (y quizá beta) y el aumento del PLV en theta bajo puede que sean reflejo de este proceso. Sin embargo, para establecer una correlación entre estos cambios y el efecto psicótico se necesitaría de más investigación. Podría ser que algunos fueran predecesores o incluso sustrato del efecto antidepresivo, como la actividad gamma, los aumentos de información mutua general y en beta. En nuestro trabajo vemos el efecto antidepresivo a las 2 horas, pero eso no quiere decir que no se manifieste antes como parecen indicar algunos trabajos (Clarke et al., 2017; Popik et al., 2017).

Marcadores moleculares y oscilatorios del efecto antidepresivo de la ketamina

Como hemos adelantado anteriormente, la bibliografía ha demostrado que el gamma inicial detectado tras la administración de ketamina sería predictor de su efecto antidepresivo posterior. Este efecto antidepresivo, que se debería fundamentalmente a la puesta en marcha de cascadas moleculares implicadas en los procesos de plasticidad sináptica (para una revisión ver Browne & Lucki, 2013; Zanos & Gould, 2018; Gilbert & Zarate, 2020; Jelen & Stone, 2021) aunque no se pueden descartar otros efectos a nivel electrofisiológico como los que nosotros observamos durante la última parte del registro y que discutiremos a continuación.

En nuestro caso vemos que ambas dosis estudiadas generan este aumento de gamma, por lo que indicaría un efecto antidepresivo posterior de las dos, aunque este incremento es de mayor duración cuando la dosis es elevada. En el caso de la dosis baja, solo se observan aumentos

los primeros 10 minutos y el en caso de la dosis alta hasta los 60 minutos en HPC y los 40 en vmPFC. En cualquier caso, dado que ambas dosis producen efecto antidepresivo, como muestran los experimentos de conducta, en ambos casos lo podríamos considerar un marcador del posterior efecto antidepresivo.

Los mecanismos moleculares, o el circuito, mediante los cuales la ketamina genera un efecto antidepresivo tan rápido no se conocen aún con exactitud, pero la bibliografía existente apunta a incrementos en moléculas como BDNF, mTOR, Akt, ERK o disminuciones de eEF2, todas ellas implicadas en mecanismos de plasticidad sináptica (N. Li et al., 2010; Kavalali & Monteggia, 2015). En el experimento II hemos visto que ambas dosis provocan efectos moleculares a las 2 horas, concretamente incrementos de las formas fosforiladas de Akt en el HPC y de ERK en PFC, proteínas que se encuentran “aguas arriba” de mTOR. Por lo que podríamos afirmar que los mecanismos de plasticidad sináptica, provocados posiblemente a un aumento de BDNF, o al menos los relacionados con la vía de plasticidad sináptica de mTOR, están comenzando o en proceso. El incremento en los niveles de las formas activas estas moléculas estaría ampliamente relacionado con el aumento de la actividad gamma inicial (Duncan & Zarate, 2013b; Gilbert & Zarate, 2020) antes comentado.

Sin embargo, a nivel electrofisiológico, mas allá del incremento inicial de las oscilaciones gamma, no se han propuesto muchos más biomarcadores del efecto antidepresivo. En nuestro caso, a las 2 horas tampoco pudimos identificar muchas características en la actividad eléctrica de las estructuras estudiadas que podamos proponer como sustrato funcional del efecto potencialmente antidepresivo y como posible biomarcador. Esto es, principalmente, porque a las 2 horas de administrar la ketamina (que es cuando detectamos el efecto “antidepresivo” a nivel conductual en el experimento I) la actividad registrada es casi igual a la basal.

Únicamente detectamos cambios en la información mutua general y en beta (aumentos) y en theta bajo (disminuciones). Por un lado, pensamos que la disminución de la información mutua en la banda theta podría reflejar, más que el efecto antidepresivo, un la reducción del estado ansioso tras los efectos psicóticos iniciales producidos (H. Zhang & Jacobs, 2015).

En cuanto a la oscilación beta, Jia et al. (2019) demostraron que, tras la aplicación de la DBS, la coherencia entre el HPCd y la vmPFC aumentaba en la banda beta, por lo que los incrementos observados en la información mutua en esta banda podrían reflejar el mismo proceso antidepresivo, además del ya sugerido papel de la oscilación beta en la gestión del componente ansiogénico tras la administración de ketamina.

Por otro lado, aunque anteriormente se haya comentado que las oscilaciones beta se han propuesto como marcador de estrés, es posible que disminuciones en esta banda también puedan relacionarse con el efecto antidepresivo de la ketamina. Esta idea se apoyaría en el trabajo de Sendi et al. (2021) quienes describieron disminuciones de potencia en banda beta en pacientes de depresión en el momento de implantarles los electrodos de DBS, pero previamente a conectar la estimulación, y que correlacionaba con la remisión de los síntomas depresivos. Por comparación con estos resultados, pensamos que las disminuciones de potencia de banda beta observadas durante el estado psicótico, junto con los aumentos en información mutua en estas frecuencias, en nuestros experimentos también podrían ser indicativo de un efecto antidepresivo posterior. De todas formas, estos autores no descartaron si simplemente la implantación del electrodo tuviera efecto antidepresivo, en cuyo caso, la disminución de potencia de beta no sería predictora del efecto antidepresivo, sino consecuencia.

En cualquier caso, una conclusión importante es que, los cambios a nivel de comunicación entre estructuras son especialmente relevantes. Existe la creencia de que es la PFC la estructura desde

la que se inicia la respuesta rápida de la ketamina (J. Kim et al., 2023) porque, por ejemplo, se ha demostrado que la inhibición de las neuronas GABAérgicas de vmPFC bloqueaban el efecto antidepresivo de la ketamina y que la estimulación optogenética de neuronas excitatorias de la vmPFC producía efecto antidepresivos de larga duración (Fuchikami et al., 2015).

Sin embargo, no podemos caer en la vía reduccionista y dejar de lado las conexiones que vmPFC establece con otras estructuras. Aunque la corteza pueda tener un papel importante en el efecto antidepresivo, se ha visto que la inhibición de la vía entre la vmPFC-HPCv o únicamente, la inhibición del HPCv, también bloquea el efecto antidepresivo de la ketamina (Carreno et al., 2015; Fuchikami et al., 2015). La importancia del HPC es tal que se ha visto como el tratamiento repetido con ketamina produce “metaplasticidad”, una potenciación sináptica mejorada en las colaterales de Schaffer del hipocampo (J. W. Kim et al., 2021). Por lo que es posible que esta potenciación aumentada desde el hipocampo mejore también la relación con otras estructuras como por ejemplo la vmPFC (J. Kim et al., 2023).

Por último, en nuestro experimento observamos un efecto antidepresivo de ambas dosis de ketamina a las 24 horas de su administración, que correlacionarían con los aumentos del sueño de SWS y la disminución del REM (para una revisión ver Duncan & Zarate, 2013b; Wichniak et al., 2017) y la activación de moléculas implicadas en la plasticidad sináptica como ERK y mTOR en HPCd (para una revisión ver Browne & Lucki, 2013; Zanos & Gould, 2018; Gilbert & Zarate, 2020; Jelen & Stone, 2021). Por lo tanto, estos cambios podrían ser biomarcadores del potencial antidepresivo de ambas dosis a las 24 horas.

También vimos a las 24 horas, un incremento de la potencia de la oscilación theta bajo en el HPCd. Como se dijo anteriormente, el incremento de esta actividad tras la administración de antidepresivos ha demostrado ser un biomarcador útil para diferenciar entre aquellos sujetos con depresión mayor que responderían adecuadamente al tratamiento (Korb et al., 2009, 2011; Cao et al., 2019; Alario & Niciu, 2021). A pesar de que, los incrementos en esta oscilación se han discutido anteriormente como parte de procesos ansiosos, la diferencia entre ambos radica en la temporalidad. Los cambios en la potencia theta en procesos de ansiedad suelen aparecer de manera inmediata a la exposición del estresor y volver a la normalidad cuando este desaparece (Trenado et al., 2018; C. Wang et al., 2022). Sin embargo, los producidos por el efecto antidepresivo suelen aparecer de manera más tardía, y se han reportado desde los 240 minutos (Cao et al., 2019), hasta las 8 semanas (Korb et al., 2011), e incluso durante mucho más tiempo (Broadway et al., 2012). Por lo que es posible que 24 horas después nuestros resultados también sean reflejo de la respuesta antidepresiva de la ketamina.

Además, registramos un aumento significativo del gamma alto y de las HFO en vmPFC tras la administración de ambas dosis, aunque estos últimos no alcanzaron la significación estadística. Cornwell et al. (2012) hipotetizaron que la expresión de nuevos receptores AMPA producidos por la ketamina incrementarían también el reclutamiento de neuronas GABAérgicas, lo que provocaría una mayor actividad neuronal en la banda gamma a las 24 horas. Por lo tanto, es posible que el aumento de la potencia de las oscilaciones gamma alto y HFO encontrado en ambas áreas tras la administración de ketamina refleje este proceso y permita explicar, en parte, el efecto antidepresivo del fármaco a este tiempo.

Por lo tanto, y al igual que en el apartado anterior, podríamos concluir que, los incrementos de la potencia gamma observados durante los 10 primeros minutos ya representarían el inicio de los cambios que darán lugar posteriormente a un efecto antidepresivo. Concretamente estos aumentos podrían ser los responsables de la posterior activación/fosforilación de las moléculas cuantificadas a las 2 y 24 horas. 2 horas después, los incrementos de en la información mutua

general y en la banda beta, podrían explicar/subyacer el efecto antidepresivo observado en la conducta a este tiempo, mientras que la disminución de esta variable en theta bajo, podría ser sustrato de la disminución del estados ansioso producido por la psicosis.

A las 24 horas, el aumento de la SWS en el sueño sería un biomarcador claro de su efecto antidepresivo ya que, como se ha discutido anteriormente, la bibliografía aporta pruebas de ello. Y otros posibles marcadores serían el aumento de la potencia theta y gamma.

Coste/beneficio de la ketamina: ¿Qué dosis utilizar?

Como se ha podido observar, ambas dosis estudiadas en nuestros experimentos producen el mismo efecto antidepresivo a nivel comportamental tanto a las 2, como a las 24 horas. Además, ambas dosis activarían cascadas moleculares implicadas en los procesos de plasticidad cerebral. Sin embargo, como hemos podido demostrar, la dosis de 30 mg/kg induce un mayor y más prolongado efecto psicótico. Es por ello, por lo que en los siguientes experimentos (concretamente en el experimento V) estudiaremos el efecto antidepresivo de la dosis de 5 mg/kg, que ha mostrado la que mejor relación entre los efectos deseado/indeseado.

Por otro lado, mediante el experimento III vemos que los efectos provocados durante los primeros 10 minutos son similares por parte ambas dosis, y que podríamos emplear estos marcadores para identificar efecto psicótico de estas u otras dosis en estudio. Al administrar la de 30 mg/kg (y mediante más estudios) podríamos caracterizar actividades predecesoras/predictoras del efecto antidepresivo posterior, el cual es útil tener presente para la evaluación del potencia antidepresivo de otras posibles dosis.

Estudio del desarrollo de un estado depresivo generado por la administración crónica de corticosterona y del efecto antidepresivo de la ketamina

Resultados

Experimento IV: Estudio del desarrollo de conductas de tipo depresivo y ansioso en un modelo de depresión por administración crónica de corticosterona en hembras de ratón

Como se ha descrito previamente, para abordar el estudio de los efectos sobre la actividad cerebral del desarrollo de un estado depresivo en ratones, así como del potencial efecto antidepresivo de la ketamina a nivel conductual y también electrofisiológico, era necesario en primer lugar poner a punto el modelo de depresión. En concreto, como ya se explicó en el apartado de metodología, se utilizó el modelo de administración crónica (21 días) de corticosterona propuesto por D. J. David et al. (2009). Por eso, se llevó a cabo el experimento IV, mediante el que se abordaron los **objetivos 9 y 10**, con los siguientes grupos experimentales: uno a cuyos animales se les administró corticosterona en biberón de manera crónica (grupo CORT; $n = 7$) y otro, control (grupo VEH; $n = 8$), a cuyos animales se le administraba durante el mismo tiempo solo el vehículo de disolución de la corticosterona.

Para comprobar el efecto del tratamiento con corticosterona se realizó un TST al inicio y una vez transcurridos los 21 días (días 1 y 21) y las puntuaciones de ambos test fueron comparados a través de un ANOVA de dos vías con dos factores (el *tiempo* o día de realización del test; inicio *vs* 21 días, el *grupo*; experimental *vs* control y la interacción de ambos). Al final del tratamiento se llevó a cabo también un *OMaze* para explorar el desarrollo de conductas ansiosas como efecto del mismo. Al día siguiente, día 22, se llevaron a cabo un *Novelty* y un FST, para reafirmar el desarrollo del estado depresivo solamente en los animales que habían recibido corticosterona en comparación con los animales control. La diferencia entre el tiempo de inmovilidad inicial y final de los TST nos da información intra y entre grupos, y el *Novelty* y el FST, y el *OMaze*, nos confirman el desarrollo del estado depresivo y ansioso, respectivamente, por comparación entre grupos. En estos casos, al comparar solamente entre los grupos experimentales se realizó un prueba *t* de *Student*. En todos los casos se comprobó la normalidad (*Shapiro Wilk*) y la homogeneidad de varianzas (Prueba de *Levene*) y si alguno de estos supuestos no se cumplía, los datos eran transformados según el índice λ obtenido en la prueba de *Box-Cox*.

El tratamiento crónico con corticosterona provoca comportamientos de tipo depresivo

El tratamiento crónico con corticosterona provoca el desarrollo de comportamientos de tipo depresivo. Con respecto al análisis de los TST realizados antes y después de este, tanto los factores *día* ($F_{1,23} = 16.57$, $p < 0.001$), *grupo* ($F_{1,23} = 10.61$, $p < 0.01$) como la interacción entre ellos (*día*grupo*: $F_{1,23} = 14.30$, $p < 0.001$) resultaron significativos, indicando que el tratamiento ejercía efectos diferentes en cada grupo. La prueba *post hoc* (*Tukey*) demostró que 21 días después de iniciar el tratamiento, el grupo CORT (había recibido la corticosterona)

permaneció durante más tiempo inmóvil que los animales que solamente habían recibido el vehículo (grupo VEH. $p < 0.001$; **Figura E-IV.1A**). Además, este grupo también permaneció durante más tiempo inmóvil que los animales de ambos grupos al inicio del tratamiento ($p < 0.001$). Los valores del grupo VEH no a los 21 días (después del tratamiento) no fueron diferentes a los valores iniciales, ni tampoco a los del grupo experimental antes de recibir el tratamiento ($p > 0.05$. **Figura E-IV.1A**).

El análisis del *OMaze* realizado también el día 21 (**Figura E-IV.1B**) muestra que los animales del grupo CORT presentaron una latencia estadísticamente superior a entrar por primera vez a los brazos abiertos que el grupo control ($t = -2.72$, $p < 0.05$; **Figura E-IV.1b1**). Además, el tiempo total que permanecieron dentro de los cuadrantes abiertos del laberinto fue menor en el caso de los animales que pertenecían al grupo experimental, ($t = 2.4$, $p < 0.05$; **Figura E-IV.1b2**), aunque el número de entradas que realizaron a los cuadrantes abiertos del laberinto fue similar entre ambos grupos ($t = 0.5$, $p > 0.05$; **Figura E-IV.1b3**). Estos resultados demostraron un mayor grado de ansiedad por parte de los animales que habían recibido la corticosterona, ya que estos animales pasaban más tiempo y tardaban mucho más en entrar en las zonas ansiogénicas del laberinto, en comparación al grupo control.

Del resto de medidas, ninguna resultó estadísticamente significativa (tiempo mirando al precipicio: $t = -2$, $p > 0.05$; número de *SAPs*: $t = -1.13$, $p > 0.05$, **Figura E-IV.1b3**), a pesar de que en también en algunas de estas medidas los animales pertenecientes al grupo experimental obtuvieron puntuaciones más altas.

Respecto de los parámetros medidos en el test Novelty (**Figura E-IV.1C**), la variable más analizada en la bibliografía (D. J. David et al., 2009; Stedenfeld et al., 2011; Fukumoto et al., 2014; Blasco-Serra et al., 2017; Camargo et al., 2019; Pazini et al., 2020; X. H. Tang et al., 2020) es la latencia a comer por primera vez, alcanzando este parámetro en nuestro experimento la significación estadística ($t = -4.12$, $p < 0.01$; **Figura E-IV.1c1**). Este resultado demostró de nuevo un comportamiento depresivo por parte de los animales que habían recibido el tratamiento experimental, en este caso, al día siguiente.

Además, se observa que la latencia a entrar por primera vez en la zona central y en la zona de la comida fueron mayores en el grupo que había recibido corticosterona (**Figura E-IV.1c1**), y lo mismo ocurre con el número de veces (frecuencia) que entran en estas zonas (**Figura E-IV.1c2**). Aunque ninguna de estas variables alcanzó la significación estadística (Latencia a entrar en la zona de la comida: $t = -1.27$, $p > 0.05$; latencia a entrar en la zona central: $t = -1.34$, $p > 0.05$; número de veces o frecuencia a entrar en la zona central; $t = 1.14$, $p > 0.05$; número de veces o frecuencia a entrar en la zona de la comida; $t = 1.13$, $p > 0.05$) estos valores apoyan la idea de que los animales que han recibido el tratamiento con corticosterona manifiestan una aversión a entrar en la zona más iluminada. Respecto a las variables tiempo en la zona central ($t = 0.77$, $p > 0.05$) y tiempo en la zona de la comida ($t = 0.76$, $p > 0.05$; **Figura E-IV.1c3**) no se encontraron diferencias ni tendencias.

Por último, respecto de la prueba del FST realizada también el día 22, se ponen de manifiesto de nuevo diferencias entre aquellos animales que pertenecían al grupo CORT y el grupo control. En concreto, el grupo experimental nadó menos ($t = 3.13$, $p < 0.01$; **Figura E-IV.1D**) y permaneció inmóvil durante más tiempo ($t = -3.56$, $p < 0.01$) que el grupo control, aunque las puntuaciones de la escalada no fueron diferentes entre grupos. No hubo diferencias en las puntuaciones de escalada ($t = 0.20$, $p > 0.05$. **Figura E-IV.1D**).

De nuevo, estos resultados proporcionaron pruebas de la efectividad del tratamiento con corticosterona.

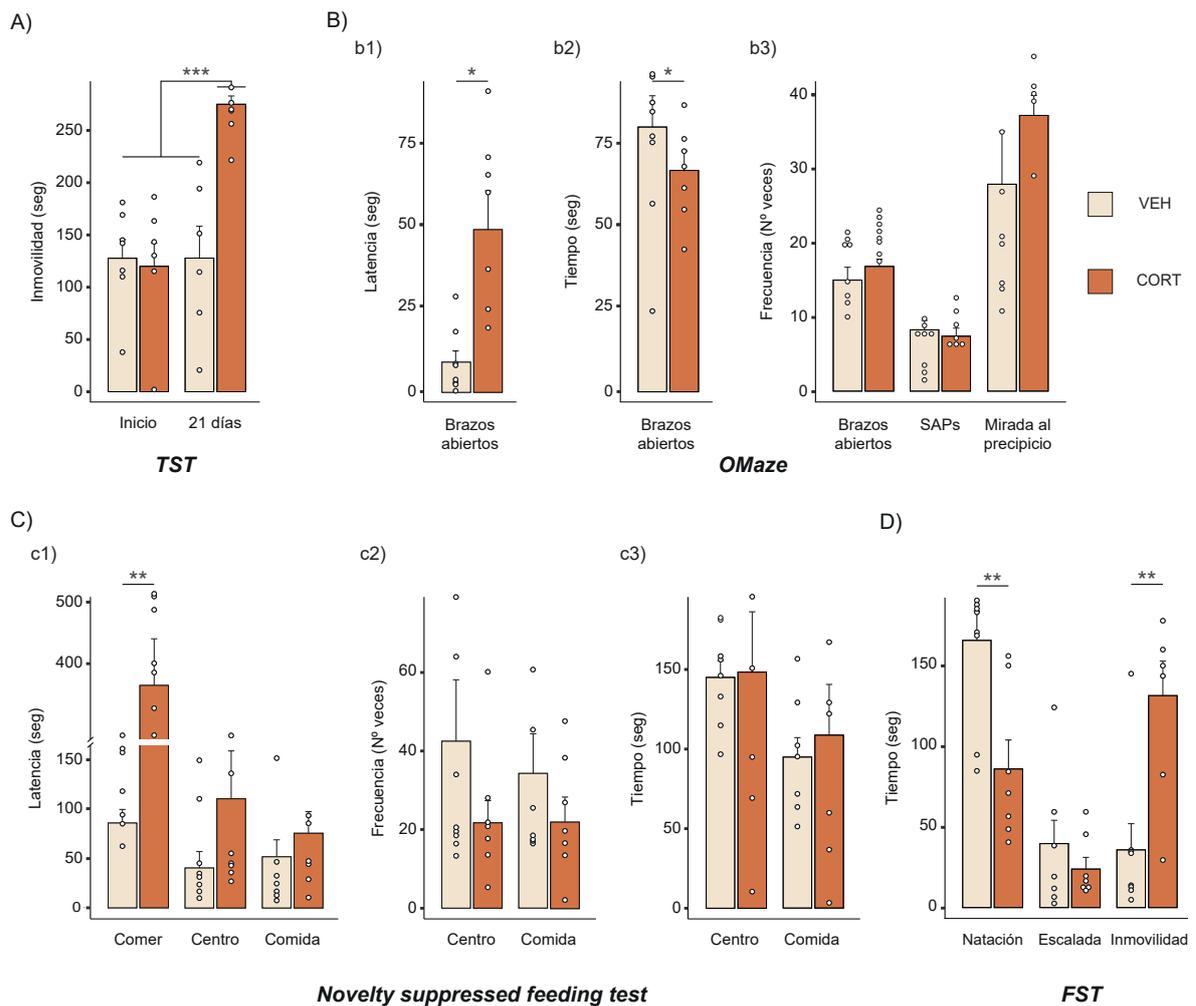


Fig. E-IV.1: Efectos en el comportamiento tras el tratamiento crónico con corticosterona. Los efectos del tratamiento con corticosterona (grupo CORT) fueron cuantificados a través de diferentes pruebas conductuales: TST (A), OMaze (B), Novelty (C) y FST (D) y comparados con un grupo de animales que únicamente había recibido el vehículo en el que iba disuelta la corticosterona (VEH), o con sus propios valores, según el test. Los datos están expresados a través de la media \pm SEM. El ANOVA una vía seguido de test de Tukey para comparar las puntuaciones antes y después confirma el efecto del tratamiento en el TST, ya que el día 21 los animales tratados permanecen inmóviles más tiempo que los controles y que todos los animales el día inicial. El *t-test* para evaluar las variables medidas en el OMaze, realizado el día 21, indican un estado ansioso, sobre todo por las latencias superiores de los animales tratados a entrar a los brazos abiertos, así como a pasar menos tiempo en estos. Sobre las variables medidas en el Novelty, el día 22 de tratamiento el *t-test* confirma un estado depresivo especialmente por la mayor latencia a comer manifestada por los animales tratados. Por último, el FST llevado a cabo también el día 21 confirma el desarrollo de conductas de tipo depresivo (menor natación y mayor inmovilidad) en aquellos animales que han recibido el tratamiento crónico con corticosterona. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ y ***, $p < 0.001$.

Experimento V: Estudio en hembras de ratón del efecto antidepresivo de 5 mg/kg de ketamina. Análisis de la actividad de vmPFC y HPCd como posible sustrato funcional del estado depresivo generado por la corticosterona y de la mejora sintomatológica generada por la ketamina

En este experimento, se abordaron los **objetivos del 11 al 19**, es decir, en primer lugar se caracterizarán alteraciones en los patrones de actividad neuronal de HPCd y vmPFC y en la comunicación de ambas estructuras, así como en la estructura del sueño tras la aplicación del modelo de depresión producido por la administración crónica de corticosterona.

Además, pretendemos comprobar, también en hembras, el posible efecto antidepresivo a nivel conductual de la ketamina en este modelo, en concreto de la dosis de 5 mg/kg atendiendo a los resultados obtenidos en el experimento I, así como si revierte o cambia el patrón electrofisiológico en HPCd y vmPFC y la estructura del sueño en ratones que han pasado por el modelo de depresión. Con todos estos datos esperamos poder relacionar los cambios observados en los patrones de actividad neuronal y en la arquitectura del sueño con el efecto antidepresivo de la ketamina.

Para abordar los objetivos planteados, en este experimento se diseñó con dos grupos experimentales; en ambos todos los animales recibieron tratamiento crónico con corticosterona, pero el día 22, en uno de ellos, los animales recibían una inyección intraperitoneal de 5 mg/kg de ketamina (grupo CORT + Ket, $n = 9$) y los del otro grupo, (CORT + Salino, $n = 7$), recibían salino. De esta manera se puede comprobar el efecto de la ketamina a 5 mg/kg como antidepresivo en este modelo.

Además, se utilizaron los datos del experimento anterior en forma de “controles históricos” ya que en uno de los grupos no habían recibido corticosterona, y por tanto representan un control del tratamiento con ésta, y en el otro sí la han recibido, pero no han sido administrados con ninguna sustancia posteriormente. Estos grupos se integraron al experimento V cambiándoles el nombre a: VEH + No Trat ($n = 8$, recibieron vehículo durante el periodo de inducción del estado depresivo, y posteriormente no recibieron tratamiento ni con ketamina ni con el vehículo); CORT + No Trat ($n = 7$, recibieron corticosterona durante el periodo de inducción del estado depresivo, y posteriormente no recibieron tratamiento ni con ketamina ni con el vehículo). Al añadir estos grupos aumenta la potencia estadística de las pruebas utilizadas y, además, permite la reducción del número de grupos experimentales y, por tanto, de animales empleados en este experimento.

Al igual que en el experimento IV, para comprobar el efecto del tratamiento con corticosterona se realizó un TST al principio y pasados 21 días (días 1 y 21) y las puntuaciones de ambos test fueron comparados a través de un ANOVA de dos vías con dos factores (el *tiempo* o día de realización del test, inicio *vs* 21 días; el *grupo*; donde se incluían los 4 grupos, los 2 de este experimento y los 2 controles históricos del anterior; y la interacción entre ambos). Para el resto de test (*Novelty*, *OMaze* y *FST*) se utilizó el ANOVA de una vía, con los *grupos* como factor.

Además de las pruebas conductuales ya descritas, en este experimento se realizaron registros electrofisiológicos en ambos grupos experimentales de las mismas áreas cerebrales estudiadas en el experimento III, HPCd y vmPFC. Se pretendía, así, estudiar la actividad eléctrica sustrato de la manifestación de conductas depresivas por el tratamiento con corticosterona, y la modificación de estas alteraciones por la administración con ketamina, cambios que podrían

subyacer a la mejora a nivel conductual.

En concreto, estos registros se realizaron antes de iniciar el tratamiento con corticosterona, 21 días después, y 24 horas después de la administración de ketamina, con el objetivo de describir biomarcadores asociados a la depresión y de su posterior recuperación tras la administración de ketamina. En este caso se estudió, por un lado, diferentes variables de todos los estados de vigilia tranquila [3] y se comparó entre días (a través del porcentaje de cambio tal y como se ha explicado en secciones previas) y, además, se estudió la estructura del sueño.

Tras la revisión de los registros, el tamaño resultante de cada grupo fue de $n = 5$ animales, para el grupo CORT + Salino y $n = 6$, para el grupo CORT + Ket. Para analizar estadísticamente los resultados de estos experimentos se escogió el ANOVA mixto, con dos factores: un factor intra-sujetos, el *tiempo* o los diferentes *días* de registro electrofisiológico (basal, 21 días, postratamiento); y el *grupo* (CORT + Ket; CORT + Salino), es decir, animales que habían recibido salino o ketamina; y la interacción de ambos (*días*grupo*).

En todos los ANOVAS, se utilizó como test *post hoc* el test de *Tukey*. En todos los casos se comprobó la normalidad (*Shapiro Wilk*) y la homogeneidad de varianzas (Prueba de *Levene*) y si alguno de estos supuestos no se cumplía, los datos eran transformados según el índice λ obtenido en la prueba de *Box-Cox*. Para el ANOVA mixto se revisó además el supuesto de esfericidad, y si había incumplimiento el estadístico *F* era corregido mediante la corrección de *Greenhouse-Geisser*.

La administración de 5 mg/kg de ketamina revierte los síntomas de tipo depresivo y ansioso producidos por el tratamiento crónico con corticosterona

En primer lugar, el efecto del tratamiento con corticosterona, evaluado mediante el TST el día 1 y 21 en todos los animales, debía mostrar el desarrollo de conductas depresivas en todos los animales excepto en el VEH + No trat el día 21. Y, efectivamente, así fue. La **Figura E-V.1A**, que refleja los resultados de la ANOVA de dos vías, indica que ambos factores principales (*día*: $F_{1,47} = 69.97$, $p < 0.001$; *grupo*: $F_{3,47} = 4.45$, $p < 0.01$) y su interacción (*día*grupo*: $F_{3,47} = 8.74$, $p < 0.001$) resultaron significativos. Esto significa que las puntuaciones en la variable inmovilidad obtenida por los animales cambió a lo largo del experimento y en función del grupo al que pertenecían.

Concretamente, la inmovilidad aumentó 21 días después en todos los grupos que habían sido tratados con corticosterona, en comparación con su valor inicial (CORT + No Trat día 1 *vs* 21 días después, $p < 0.001$; CORT + Salino día 1 *vs* 21 días después, $p < 0.001$; CORT + Ket día 1 *vs* 21 días después, $p < 0.05$) y con el valor inicial del grupo no tratado (VEH + No Trat día 1 *vs* CORT + No Trat 21 días después, $p < 0.001$; VEH + No Trat día 1 *vs* CORT + Salino 21 días después, $p < 0.001$; VEH + No Trat día 1 *vs* CORT + Ket 21 días después, $p < 0.05$. **Figura E-V.1A**).

Además, el único grupo que no mostró cambios respecto a su valor inicial fue aquel que solamente había recibido el vehículo (VEH + No Trat día 1 *vs* 21 días después, $p > 0.05$). De igual manera, los grupos que habían recibido corticosterona mostraron puntuaciones de inmovilidad a los 21 días más altas que el grupo que había recibido solamente el vehículo 21 días después (CORT + No Trat *vs* VEH + No Trat 21 días después, $p < 0.001$; CORT + Salino *vs* VEH + No Trat 21 días después, $p < 0.01$; CORT + Ket *vs* VEH + No Trat 21 días después, $p < 0.05$. **Figura E-V.1A**).

Por último, como era de esperar, no hubo diferencias entre los grupos el día 1 del experimento

ya que aún no habían recibido el tratamiento ($p > 0.05$). Tampoco las hubo entre los grupos de animales que habían recibido la corticosterona 21 días después de iniciar el tratamiento ($p > 0.05$. **Figura E-V.1A**) demostrando que a todos los grupos les afectó el tratamiento por igual. Estos resultados indican de nuevo la efectividad del tratamiento y la presencia de síntomas similares a los generados por la depresión, así como que no hay diferencias en los efectos del tratamiento entre grupos.

La prueba estadística elegida para las estudiar las variables medidas en test *Novelty* (**Figura E-V.1B**), realizado para todos los grupos el día 22, fue el ANOVA de una vía, con los diferentes “grupos” como factor.

En primer lugar, la latencia a comer fue estadísticamente diferente entre grupos ($F_{3,25} = 15.07$, $p < 0.001$). En concreto, los animales que habían recibido ketamina 2 horas antes de la realización de la prueba tardaron en comer lo mismo que el grupo que no había recibido el tratamiento con corticosterona (CORT + Ket *vs* VEH + No Trat, $p > 0.05$. **Figura E-V.1b1**).

A su vez, estos dos grupos tardaron menos tiempo en comer que el grupo que había sido tratado con corticosterona y no había recibido la administración posterior de ninguna sustancia (CORT + Ket *vs* CORT + No Trat, $p < 0.001$; VEH + No Trat *vs* CORT + No Trat, $p < 0.001$) y que el grupo que había recibido salino después del tratamiento con corticosterona (CORT + Ket *vs* CORT + Salino, $p < 0.001$; VEH + No Trat *vs* + Salino, $p < 0.001$. **Figura E-V.1b1**). Además, no hubo diferencias entre los animales que habían recibido corticosterona sin ninguna administración posterior y aquellos que habían recibido corticosterona y posteriormente se les administró salino (CORT + No Trat *vs* CORT + Salino, $p > 0.05$).

Respecto de las otras variables, la latencia a entrar en la zona central (*grupo*: $F_{3,27} = 1.18$, $p > 0.05$) y en la zona de la comida (*grupo*: $F_{3,27} = 0.38$, $p > 0.05$) no supusieron diferencias entre grupos a nivel estadístico (**Figura E-V.1b1**).

El número de veces que los animales entraron en alguna de las dos zonas de interés solamente alcanzó la significación estadística para la zona de la comida (*grupo*: $F_{3,27} = 3.02$, $p < 0.05$), pero no para la zona central (*grupo*: $F_{3,27} = 0.82$, $p > 0.05$). De manera general, y en función de las medias obtenidas, aquellos animales que habían recibido la administración de ketamina entraron más veces que el resto de grupos en la zona de la comida. Sin embargo, las pruebas *post hoc* solamente revelaron diferencias significativas entre este grupo y aquellos animales que habían recibido el tratamiento de corticosterona, pero no habían recibido ninguna sustancia después (CORT + Ket *vs* CORT + No Trat, $p < 0.05$). No se vieron diferencias en ninguna de las otras comparaciones ($p > 0.05$. **Figura E-V.1b2**). Estos resultados apuntan que el nivel de ansiedad de los animales que habían recibido ketamina había disminuido ya que entran más veces a la zona iluminada.

Por último, de las variables que midieron el tiempo dentro de las zonas de interés solamente resulto significativa aquella que comparó el tiempo que pasaron los animales en el área central (*grupo*: $F_{3,27} = 3.96$, $p < 0.05$). En este caso, los animales que habían recibido ketamina pasaron más tiempo en la zona central que aquellos que recibieron corticosterona y salino (CORT + Ket *vs* CORT + Salino, $p < 0.05$). Las puntuaciones del grupo CORT + Salino también fueron más bajas que la de aquellos que no había recibido el tratamiento con corticosterona (VEH + No Trat *vs* CORT + Salino, $p < 0.05$. CORT + No Trat *vs* CORT + Salino, $p > 0.05$. **Figura E-V.1b3**). El resto de comparaciones entre grupos no alcanzaron la significación estadística ($p > 0.05$). El tiempo que pasaron los animales en la zona de la comida mostró un perfil similar al de la variable anterior, sin embargo, en esta variable el ANOVA no alcanzó la significación estadística (*grupo*: $F_{3,27} = 1.63$, $p > 0.05$).

Todos estos resultados en conjunto indican que la administración de ketamina revertía los síntomas de tipo depresivo, y ansiógeno, provocados por la corticosterona, llevando a la expresión de conductas equivalente a los de los animales que no habían recibido corticosterona

En el *OMaze* (**Figura E-V.1C**) la comparaciones entre grupos de aquellas variables relacionadas con los brazos abiertos fueron estadísticamente diferentes entre grupos (Latencia a entrar en los brazos abiertos: $F_{3,27} = 7.19$, $p < 0.01$. Número de entradas a los brazos abiertos: $F_{3,27} = 4.24$, $p < 0.05$. Tiempo en los brazos abiertos. $F_{3,27} = 3.35$, $p < 0.05$) demostrando que los animales se movieron hacia los brazos ansiogénicos en función del tratamiento recibido.

En concreto, aquellos animales que habían recibido corticosterona y aquellos que habían recibido corticosterona más salino, tardaron mucho más tiempo en salir por primera vez a uno de los brazos abiertos que aquellos animales que no había recibido corticosterona (VEH + No Trat *vs* CORT + No Trat, $p < 0.05$; VEH + No Trat *vs* CORT + Salino, $p < 0.05$) y que aquellos que tras la corticosterona recibieron ketamina (CORT + Ket *vs* CORT + No Trat, $p < 0.05$; CORT + Ket *vs* CORT + Salino, $p < 0.01$). Además, el grupo que había recibido ketamina tardó lo mismo que aquellos animales que no habían recibido el tratamiento con corticosterona (VEH + No Trat *vs* CORT + Ket, $p > 0.05$. **Figura E-V.1c1**), confirmando la de nuevo la reducción de los síntomas ansiogénicos tras la administración de los 5 mg/kg de ketamina.

En coherencia, el tiempo total en los brazos abiertos obtuvo su puntuación máxima en aquellos animales que no había recibido corticosterona. Sin embargo, aunque el resto de puntuaciones se encontraron por debajo de las de este grupo, solamente se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto de aquellos animales que había recibido salino tras el tratamiento con corticosterona (VEH + No Trat *vs* CORT + Salino, $p < 0.05$). Siendo además este último grupo, el que paso menos tiempo en los brazos abiertos. El resto de comparaciones no fueron significativas ($p > 0.05$. **Figura E-V.1c2**).

En referencia al número de veces que los animales pasaban de los brazos cerrados a los abiertos, en esta variable se vieron diferencias entre los animales que había recibido ketamina después de la corticosterona y los que había recibido salino después de este tratamiento (CORT + Ket *vs* CORT + Salino; $p < 0.001$), demostrando de nuevo una disminución de la ansiedad en aquellos animales que había recibido la ketamina. El resto de comparaciones no alcanzaron la significación estadística ($p > 0.05$. **Figura E-V.1c3**).

Por último, en las variables de *SAPs* y mirar hacia el precipicio también se obtuvo significación estadística (*grupo. SAPs*: $F_{3,27} = 4.72$, $p < 0.01$. Precipicio: $F_{3,27} = 3.89$, $p < 0.05$). que reflejaba, en este caso, que los animales que habían recibido ketamina volvían a mostrar los máximos de puntuación, siendo además estos valores superiores a los de aquellos animales que no habían recibido ningún tratamiento con corticosterona (*SAPs* y mirar hacia el precipicio: VEH + No Trat *vs* CORT + Ket, $p < 0.05$). Esto demostró, al igual que las variables anteriores la disminución de la ansiedad producida por el tratamiento con corticosterona tras la administración de ketamina. El resto de comparación no resultaron significativas ($p > 0.05$. **Figura E-V.1c3**).

El último test fue el FST (**Figura E-V.1D**), realizado para comprobar la permanencia del efecto antidepresivo de la ketamina a las 24 horas. Tanto las comparaciones entre grupos respecto la natación ($F_{3,27} = 10.73$, $p < 0.001$) como la inmovilidad ($F_{3,27} = 21.75$, $p < 0.001$) alcanzaron la significación estadística, confirmando, de nuevo que los grupos se comportaron de manera diferente según los tratamientos que habían recibido.

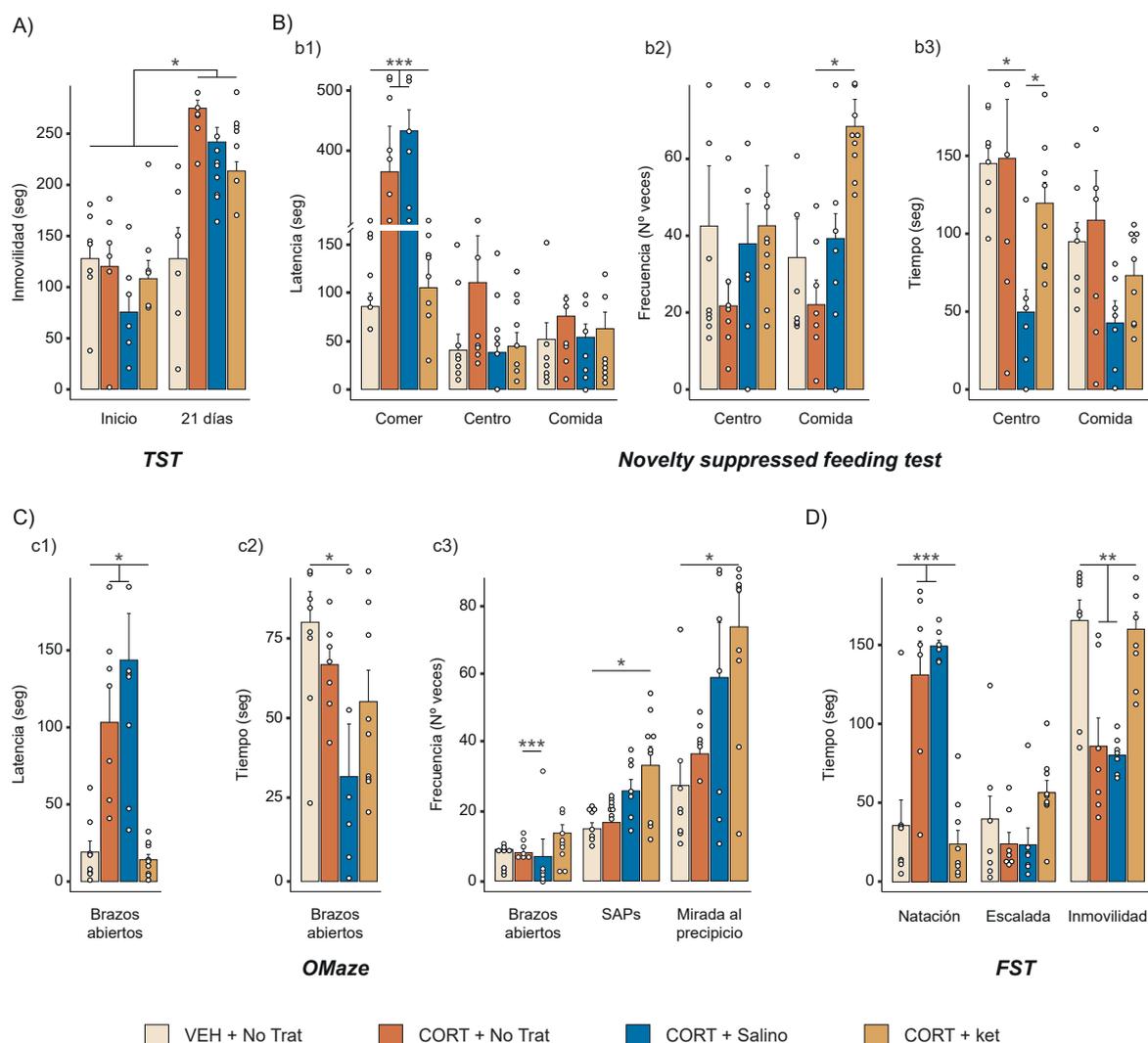


Fig. E-V.1: Efectos sobre la conducta tras el tratamiento crónico con corticosterona y la posterior administración de ketamina (5 mg/kg) o salino. A todos los animales de este experimento se les sometió al tratamiento crónico con corticosterona, y el día 22, recibieron o bien una inyección de salino (grupo CORT + Salino) o de ketamina (5 mg/kg. Grupo CORT + Ket). Además, se utilizaron como controles históricos los grupos del experimento IV (grupo VEH + No Trat, no habían recibido corticosterona; y CORT + No Trat, habían recibido corticosterona durante 22 días), los cuales no recibieron la administración de ninguna sustancia tras el tratamiento con corticosterona/vehículo. El desarrollo de conductas depresivas se analizó mediante dos TST, uno realizado antes del inicio del tratamiento y el otro al final (A), *Novelty* el día 22, 2 horas después de la administración de ketamina/salino (B), *OMaze* (C). Realizado el día 22, 2 horas después de la administración de ketamina/salino, y un FST (D) Llevado a cabo el día 23, 24 horas después de la administración de ketamina/salino). Los datos están expresados a través de la Media \pm SEM y para los test *Novelty*, *OMaze* y FST su utilizó un el ANOVA de una vía y un test de *Tukey* como prueba *post hoc*. En el caso del TST se utilizó el ANOVA dos vías seguido de test de *Tukey* para comparar los efectos temporales y entre grupos. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; y ***, $p < 0.001$.

En concreto, los animales que habían recibido ketamina 24 horas antes del test nadaron y permanecieron inmóviles de manera similar a aquellos animales que no habían experimentado el tratamiento con corticosterona (VEH + No Trat vs CORT + Ket, $p > 0.05$). Ambos grupos nadaron durante más tiempo y permanecieron durante menos tiempo inmóviles que los animales que habían recibido el tratamiento con corticosterona pero no habían recibido luego ketamina (Natación: CORT + Ket vs CORT + No Trat, $p < 0.01$; VEH + No Trat vs CORT + No Trat,

$p < 0.01$; CORT + Ket *vs* CORT + Salino, $p < 0.01$; VEH + No Trat *vs* CORT + Salino, $p < 0.01$. Inmovilidad: CORT + Ket *vs* CORT + No Trat, $p < 0.001$; VEH + No Trat *vs* CORT + No Trat, $p < 0.001$; CORT + Ket *vs* CORT + Salino, $p < 0.001$; VEH + No Trat *vs* CORT + Salino, $p < 0.001$). Los grupos que habían sido tratados con corticosterona y luego no habían recibido ketamina, nadaron y permanecieron inmóviles de manera similar entre ellos (CORT + No Trat *vs* CORT + Salino, $p > 0.05$). Por último, aunque el grupo que había recibido ketamina obtuvo puntuaciones mayores en la escalada que los otros grupos, para esta variable no se alcanzó la significación estadística ($F_{3,27} = 2.31$, $p > 0.05$. **Figura E-V.1D**).

Por lo tanto, el FST confirma que el efecto antidepresivo de la ketamina se mantiene a las 24 horas después de su administración.

El estado depresivo inducido por la administración crónica de corticosterona altera las potencias de algunas oscilaciones cerebrales y la administración de 5 mg/kg de ketamina revierte algunos de estos efectos

Como también se ha descrito previamente, en primer lugar, se calculó la potencia de ondas lentas o delta (por debajo de los 3 Hz); theta bajo [3-6 Hz], theta alto [6-12 Hz] y theta total [3-12 Hz]; beta [12-30 Hz]; gamma bajo [30-60 Hz], medio [60-80 Hz], alto [80-120 Hz]) y las HFO, entre los 120-200 Hz. Estos cálculos se realizaron en los estados de vigilia tranquila [3] de cada uno de los días.

Con respecto a las oscilaciones lentas, los análisis indicaron que su potencia no cambió en el HPCd; no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los factores principales (grupo: $F_{1,9} = 0.88$, $p > 0.05$; días: $F_{1,14,10.26} = 0.07$, $p > 0.05$) ni en la interacción entre ambos (días*grupo: $F_{1,14,10.26} = 0.6$, $p > 0.05$. **Figura E-V.2A**).

Sin embargo, en la vmPFC, aunque no fue significativo el factor grupo ($F_{1,9} = 3.22$, $p > 0.05$) si lo fueron el factor temporal (días. $F_{2,18} = 15.51$, $p < 0.001$) y la interacción entre ambos factores (días*grupo: $F_{2,18} = 6.75$, $p < 0.01$) lo que refleja cambios en la potencia de esta oscilación a lo largo de los días del experimento y de la sustancia recibida el día 22.

En concreto, las comparaciones por parejas indicaron que la potencia de la SW era igual en ambos grupos antes de comenzar el tratamiento (CORT + Salino *vs* CORT + Ket registro basal, $p > 0.05$). Sin embargo, tras 21 días de exposición a corticosterona se había reducido en ambos grupos respecto a los niveles iniciales (Grupo CORT + Salino, basal *vs* 21 días; Grupo CORT + Ket, basal *vs* 21 días, $p < 0.05$). Esta disminución fue igual para ambos grupos, ya que no hubo diferencias en el porcentaje de cambio entre ellos a los 21 días (CORT + Salino *vs* CORT + Ket los 21 días, $p > 0.05$) lo que demostró que el tratamiento con corticosterona provocaba una disminución de la potencia similar en todos los animales a los 21 días (**Figura E-V.2B**).

Sin embargo, tras la administración de 5 mg/kg ketamina, la potencia de la SW se incrementó hasta niveles similares a los registrados en ambos grupos en el registro basal (CORT + Ket postratamiento *vs* basal $p > 0.05$). El incremento de la potencia tras la administración de ketamina en el día postratamiento también fue confirmado cuando se comparó con el día anterior (CORT + Ket 21 días *vs* CORT + Ket postratamiento, $p = 0.06$). Este fenómeno no ocurrió en aquellos animales que habían recibido únicamente salino, en cuyo caso la potencia de SW siguió incluso por debajo del nivel basal de ambos grupos (CORT + Salino postratamiento *vs* basal, $p < 0.01$), es decir, siguió descendiendo. En conjunto estos resultados reflejan una bajada en la proporción de ondas lentas con efecto del desarrollo de un estado depresivo, y la

recuperación de la potencia de estas oscilaciones como consecuencia de la administración de la ketamina (**Figura E-V.2B**).

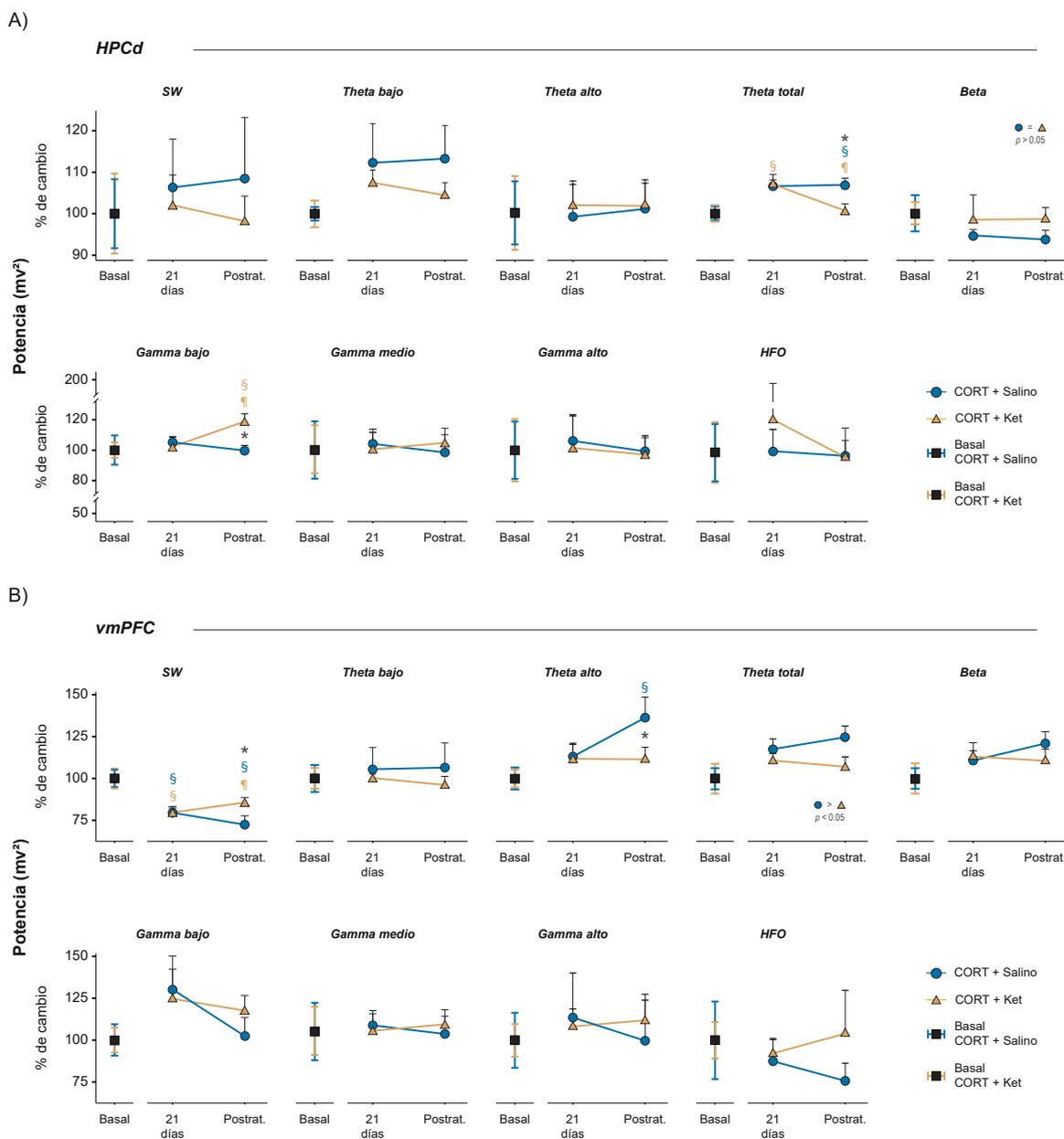


Fig. E-V.2: Cambios en la potencia de las oscilaciones en la vigilia tranquila tras la administración crónica de corticosterona y el tratamiento con ketamina o salino y según el grupo A) En HPCd se puede observar un aumento de la potencia de la frecuencia theta total (3-12 Hz) tras el tratamiento con corticosterona, seguido de una disminución de en el grupo CORT + Ket. La potencia de la oscilación gamma bajo también aumenta a las 24 horas de la administración de ketamina de manera significativa. **B)** Por su parte, en la vmPFC se observa una disminución de la potencia de la SW (0.1-3 Hz) tras el tratamiento con corticosterona en ambos grupos, y una recuperación de esta variable tras la administración de ketamina. También se observan cambios en la potencia del theta alto (6-12 Hz) y el theta total (3-12 Hz) en el grupo CORT + Salino. Los datos están expresados a través de la media \pm SEM (en los registros basales) y media + SEM en los demás registros. Los grupos fueron comparados mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto (*días*) y otro entre sujetos (*grupo*). (**Continúa en la página siguiente**).

Fig. E-V.2: (Continuación). Como prueba *post hoc* se utilizó el test de Tukey. §, ¶ o *, $p < 0.05$. Cada uno de los símbolos y su color indica una comparación diferente: §, comparación significativa con su registro basal; ¶, comparación significativa con su registro a los 21 días; y *, comparación significativa entre grupos dentro del mismo día. Los colores de § y ¶ indican sobre qué grupo se está aplicando la comparación. Los círculos y los triángulos situados alrededor de algunas gráficas representan la comparación estadística cuando solamente era significativo el factor grupo (todos los valores de ambos grupos promediados sin tener en cuenta el factor días) y el color de estas formas indica el grupo.

En lo que a la potencia de la oscilación theta se refiere, observamos cambios en función de los rangos medidos. En HPCd ninguno de los factores principales del rango theta bajo (*grupo*: $F_{1,9} = 2.46$, $p > 0.05$; *días*: $F_{2,18} = 1.69$, $p > 0.05$) ni del alto (*grupo*: $F_{1,9} = 0.19$, $p > 0.05$; *días*: $F_{1,04,9,4} = 0.04$, $p > 0.05$) alcanzaron la significación estadística. Como era de esperar, las interacciones tampoco alcanzaron la significación estadística (*días*grupo*. Theta bajo: $F_{2,18} = 1.6$, $p > 0.05$; theta alto: $F_{1,04,9,4} = 0.06$, $p > 0.05$). Sin embargo, cuando se analizó la potencia de la banda theta total de esta área, sí se pusieron de manifiesto diferencias significativas entre grupos (*grupo*: $F_{1,9} = 5.25$, $p < 0.05$; *días*: $F_{2,18} = 8.92$, $p < 0.01$) y también fue significativa la interacción entre factores (*días*grupo*: $F_{2,18} = 6.97$, $p > 0.01$). Estos resultados demostraron un cambio en la potencia de la frecuencia theta global a lo largo del experimento y con un perfil diferente según el grupo experimental, es decir, el tratamiento administrado (**Figura E-V.2A**).

En detalle, ambos grupos obtuvieron resultados similares el día del registro basal (CORT + Salino *vs* CORT + Ket en el registro basal, $p > 0.05$) y, además, en ambos grupos aumentó la potencia de esta oscilación a nivel similar 21 días después (CORT + Salino *vs* CORT + Ket, 21 días, $p > 0.05$). Sin embargo, este aumento solo resultó significativo en comparación con los valores de su control en el grupo que recibiría el día ketamina (CORT + Ket basal *vs* CORT + Ket 21 días, $p < 0.001$. CORT + Salino basal *vs* CORT + Salino 21 días, $p > 0.05$).

A partir de aquí, tras la administración de ketamina/salino cada grupo experimentó un cambio diferente. El grupo que había recibido salino continuó con valores altos de potencia theta (CORT + Salino 21 días *vs* CORT + Salino postratamiento, $p > 0.05$) mientras que, en aquellos animales que recibieron ketamina, la potencia theta se redujo cuando en comparación a los valores del día 21 (CORT + Ket 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.001$). La potencia theta total, del grupo CORT + Ket también fue menor en comparación con el grupo CORT + Salino dentro del mismo día 23 (CORT + Salino *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.01$) y se equiparó a los niveles basales de su grupo (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p > 0.05$).

En la vmPFC, tampoco se detectaron cambios en la potencia de la banda theta bajo (*grupo*: $F_{1,9} = 1.80$, $p > 0.05$; *días*: $F_{1,09-9,83} = 0.08$, $p > 0.05$; *días*grupo*: $F_{1,09-9,83} = 0.53$, $p > 0.05$). Sin embargo, sí que ocurrieron cambios en la banda theta alto. El factor *días* no fue significativo ($F_{2,18} = 1.81$, $p > 0.05$) pero sí el factor *grupo* ($F_{1,9} = 4.79$, $p = 0.05$) y la interacción entre ambos factores (*días*grupo*: $F_{2,18} = 5.22$, $p < 0.05$), indicando que la potencia cambiaba según el tiempo y el tratamiento administrado (**Figura E-V.2B**).

De nuevo, ambos grupos partieron de niveles similares (CORT + Salino *vs* CORT + Ket en el registro basal, $p > 0.05$) y 21 días después parecían mostrar valores más elevados que sus controles, aunque no de manera significativa respecto de sus basales (CORT + Salino 21 días *vs* basal; y CORT + Ket 21 días *vs* basal, $p > 0.05$) y equivalente entre ellos (CORT + Salino *vs* CORT + Ket en el registro 21 días, $p > 0.05$). El día 23, 24 horas después de la administración de ketamina o salino, según el grupo, la potencia de aquellos animales que recibieron salino continuó en ascenso, alcanzando niveles ahora sí superiores a los de su basal (CORT Salino postratamiento *vs* CORT + Salino en el día basal, $p < 0.05$). En cambio, en el grupo que había sido tratado con ketamina los niveles de esta oscilación se registraron similares a los obtenidos

el día 21 (CORT + Ket 21 días *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.05$). La diferencia entre ambos grupos el día 23 se confirmó estadísticamente (CORT + Salino *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.01$).

Al analizar todo el rango theta en conjunto, se observó también un efecto del factor *grupo* ($F_{1,9} = 21.93$, $p < 0.001$), de manera que se pudo comprobar que aquellos animales que había recibido salino mostraron una potencia mayor que aquellos que recibían ketamina ($p < 0.05$) cuando el factor tiempo era promediado (ni el factor temporal -*días*: $F_{1.21,10.9} = 1.16$, $p < 0.05$ - ni la interacción entre ambos factores alcanzaron la significación estadística -*días*grupo*: $F_{1.21,10.9} = 2.04$, $p < 0.05$ -).

Estos resultados en conjunto, estarían indicando que la corticosterona da lugar a un incremento de las frecuencias theta, que la administración con 5 mg/kg de ketamina parecería bloquear.

Las comparaciones de las oscilaciones beta y gamma únicamente mostraron diferencias estadísticamente significativas en HPCd. Con respecto al rango beta, solamente el factor grupo tuvo efecto ($F_{1,9} = 5.50$, $p < 0.05$; *días*: $F_{2,18} = 0.13$, $p > 0.05$; y *días*grupo*: $F_{2,18} = 0.74$, $p > 0.05$); los valores de potencia parecen indicar una disminución de ambos grupos el día 21 que seguía bajando el día 23 en el grupo del grupo CORT + Salino, pero se estabiliza en el grupo CORT + Ket. Sin embargo, ninguna de las pruebas *post hoc* no alcanzaron el nivel de significación estadística ($p > 0.05$).

Del espectro de frecuencias gamma solamente el rango más bajo fue estadísticamente diferente, como lo demuestra el efectos de los factores principales (*grupo*: $F_{1,9} = 5.31$, $p < 0.05$; *días*: $F_{2,18} = 4.92$, $p < 0.05$) y de la interacción entre ambos (*días*grupo*: $F_{2,18} = 6.78$, $p < 0.05$). Concretamente, el principal cambio que se observó en esta frecuencia fue su incremento en el grupo que había recibido ketamina 24 horas después de su administración.

Así, la potencia se mantuvo igualada entre grupos durante el registro basal (CORT + Salino *vs* CORT + Ket en el registro basal, $p > 0.05$) y tras el tratamiento con corticosterona (CORT + Salino *vs* CORT + Ket 21 días, $p > 0.05$), y en cada grupo tras el tratamiento con corticosterona con su registro basal (CORT + Salino basal *vs* CORT + Salino 21 días, $p > 0.05$; CORT + Ket basal *vs* CORT + Ket 21 días, $p > 0.05$). Sin embargo, 24 horas después de la administración de ketamina la potencia gamma del HPCd aumentó respecto de su registro basal (CORT + Ket basal *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.01$), a los 21 días (CORT + Ket 21 días *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.05$) y el día 23 con el otro grupo (CORT + Salino *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.01$).

Ni los efectos principales ni la interacción de los factores, alcanzaron la significación estadística para ninguna de las otras frecuencias gamma (*grupo*. Gamma medio: $F_{1,9} = 0.03$, $p > 0.05$; gamma alto: $F_{1,9} = 0.05$, $p > 0.05$; y HFO: $F_{1,9} = 0.17$, $p > 0.05$. *días*. Gamma medio: $F_{1.13,10.18} = 0.06$, $p > 0.05$; gamma alto: $F_{1.14,10.25} = 0.03$, $p > 0.05$; y HFO: $F_{1.07,9.62} = 0.3$, $p > 0.05$. *días*grupo*. Gamma medio: $F_{1.13,10.18} = 0.28$, $p > 0.05$; gamma alto: $F_{1.14,10.25} = 0.02$, $p > 0.05$; y HFO: $F_{1.07,9.62} = 0.23$, $p > 0.05$).

Como se dijo anteriormente, en vmPFC no se apreció ningún cambio en las oscilaciones beta y gamma (*grupo*. Beta: $F_{1,9} = 1.08$, $p > 0.05$; gamma bajo: $F_{1,9} = 0.5$, $p > 0.05$; gamma medio: $F_{1,9} = 0.68$, $p > 0.05$; gamma alto: $F_{1,9} = 0.07$, $p > 0.05$; y HFO: $F_{1,9} = 2.60$, $p > 0.05$. *días*. Beta: $F_{2,18} = 1.41$, $p > 0.05$; gamma bajo: $F_{2,18} = 1.7$, $p > 0.05$; gamma medio: $F_{1.23,11.09} = 1.02$, $p > 0.05$; gamma alto: $F_{2,18} = 0.27$, $p > 0.05$; y HFO: $F_{2,18} = 0.18$, $p > 0.05$. *días*grupo*. Beta: $F_{2,18} = 0.98$, $p > 0.05$; gamma bajo: $F_{2,18} = 0.93$, $p > 0.05$; gamma medio: $F_{1.23,11.09} = 0.88 = 1.02$, $p > 0.05$; gamma alto: $F_{2,18} = 0.5$, $p > 0.05$; y HFO: $F_{2,18} = 1.32$, $p > 0.05$).

Ni el tratamiento crónico inducido por la administración de corticosterona, ni la administración de 5 mg/kg de ketamina parece afectar al acoplamiento fase-amplitud dentro de las estructuras estudiadas

Al igual que en el experimento III, para representar los cambios en el acoplamiento fase-amplitud se emplearon comodulogramas. Sin embargo, en esta ocasión únicamente se analizó la comodulación entre la banda SW (0.1-3 Hz) y el gamma (30-200 Hz). Por lo que, en este experimento, cada comodulograma está formado por un total de 102 rangos de frecuencia, es decir, la comodulación fue calculada para cada uno de los intervalos de 1 Hz en los que esta divide la fase (3 intervalos, desde 0.1 hasta los 3 Hz) con intervalos de 5 Hz en los que separó la oscilación gamma (34 intervalos, desde los 30 hasta los 200 Hz).

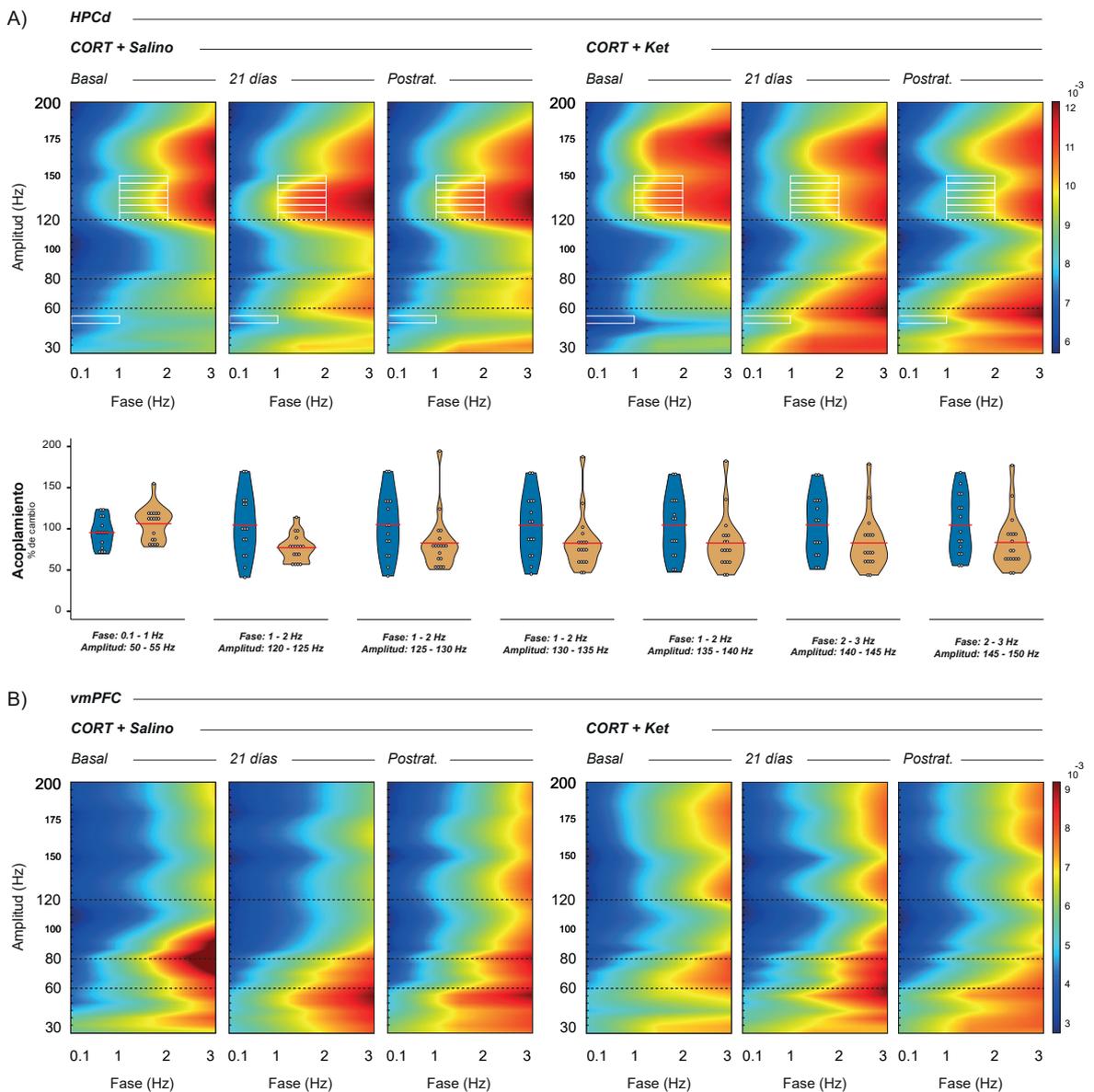


Fig. E-V.3: Acoplamiento fase-amplitud intra-estructuras del HPCd y la vmPFC. Comodulogramas promedio de cada grupo a lo largo de los días de tratamiento. (Continúa en la página siguiente).

Fig. E-V.3: (Continuación). Los colores indican el valor de la comodulación, estando representados en colores rojizos aquellos valores más altos y en azul los más bajos. Los cuadrados blancos muestran aquellas regiones en las cuales el factor *grupo* del ANOVA mixto mostró significación estadística. **A)** En el HPCd se observan cambios en el factor grupo de las frecuencias gamma situadas entre los 50-55 Hz y los 0.1-1 Hz de la SW; y 120-150 Hz y los 1-2 Hz de la SW. Los gráficos de violín situados bajo los comodulogramas representan la media (línea roja) y la distribución de los rangos del comodulograma que alcanzaron la significación estadística en el factor *grupo*. Aunque la media de las puntuaciones del grupo que recibiría salino fue ligeramente mayor en estos rangos de frecuencia, en ninguno de los casos se alcanzó la significación estadística. **B)** En vmPFC no se observó ningún cambio en el acoplamiento tras el tratamiento con corticosterona o la administración de ketamina/salino. Cada rango de frecuencias fue comparado mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto y otro entre sujetos. Como prueba *post hoc* se utilizó el test de *Tukey*.

El ANOVA mixto no reflejó ningún cambio en el acoplamiento fase amplitud en vmPFC y solo puso de manifiesto un efecto del factor principal *grupo* en HPCd en el de algunas frecuencias gamma con las SW, principalmente el rango HFO (0.1-1 con 50-55 Hz: $F_{1,9} = 11.84$, $p < 0.01$. 1-2 Hz con 120-125 Hz: $F_{1,9} = 6.07$, $p < 0.05$; con 125-130 Hz: $F_{1,9} = 6.64$, $p < 0.05$; con 130-135 Hz: $F_{1,9} = 6.69$, $p < 0.05$; con 135-140 Hz: $F_{1,9} = 6.44$, $p < 0.05$; con 140-145 Hz: $F_{1,9} = 6.16$, $p < 0.05$; y con 145-150 Hz: $F_{1,9} = 5.85$, $p < 0.05$), aunque no se alcanzó la significación estadística en ninguno de los rangos del factor *días*, ni de la interacción de los factores principales. Estos resultados, junto con lo que reflejan los comodulogramas (**Figura E-V.3**) indicarían que aparentemente esta variable no se ve afectada por el tratamiento con corticosterona ni posteriormente con ketamina, aunque el perfil es algo diferente entre los grupos a lo largo del experimento, diferencia que llega a ser significativa en el caso del HPCd (**Figura E-V.3A**), pero no en el caso de vmPFC (**Figura E-V.3B**) y que entendemos que no tiene ninguna relevancia biológica en nuestro experimento. Todos los estadísticos pueden encontrarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 5** y la **Tabla Suplementaria Supl. 6**.

El estado depresivo inducido por la corticosterona va acompañado de alteraciones de la comunicación entre HPCd y vmPFC y la ketamina revierte este efecto. La ketamina aumenta la comodulación de la SW de vmPFC con el gamma bajo del HPCd

Los análisis realizados hasta el momento estudiaban cambios producidos cada estructura. Con el fin de observar si el tratamiento con corticosterona afectaba a la comunicación entre ellas y si estos cambios se revertían tras la administración de la ketamina, se realizaron diferentes análisis como son el estudio de la información mutua y el análisis de acoplamiento de fase y de fase amplitud entre estructuras.

En primer lugar, el ANOVA mixto mostró únicamente una tendencia significativa del factor principal *días* ($F_{2-18} = 3.30$, $p = 0.06$; *grupo*: $F_{1-9} = 1.87$, $p > 0.05$; *días*grupo*: $F_{2-18} = 1.65$, $p > 0.05$) para la información mutua general, indicando que los animales experimentaron cambios en esta variable según pasaban los días de tratamiento, pero de manera igual entre los grupos. Las pruebas *post hoc*, que se realizaron promediando los valores de ambos grupos, confirmaron que la administración de corticosterona produjo una reducción de la información mutua 21 días después del registro basal ($p < 0.05$). Sin embargo, la administración de ketamina/salino no indujo, en este caso ningún efecto estadísticamente significativo (día postratamiento con respecto al día basal ni a los 21 días, $p > 0.05$) En la **Figura E-V.4A** izquierda se muestran los perfiles de ambos grupos y estas diferencias en el tiempo.

La descomposición del LFP en bandas de diferentes frecuencias demostró que el perfil observado en el análisis de información mutua global se debía principalmente a un cambio en la frecuencia SW (**Figura E-V.4A**). El ANOVA realizado para esta oscilación alcanzó la sig-

nificación estadística en ambos factores principales (*grupo*: $F_{1,9} = 6.24$, $p < 0.05$; *días*: $F_{2,18} = 13.38$, $p < 0.001$) y su interacción ($F_{2,18} = 6.78$, $p < 0.01$), demostrando cambios en la información mutua en esta oscilación dependiendo del tratamiento y del día de registro.

Concretamente, se pudo confirmar el descenso en ambos grupos tras los 21 días con corticosterona (CORT + Salino basal *vs* 21 días, $p < 0.05$; CORT + Ket basal *vs* 21 días, $p < 0.01$). También se confirmó que la administración de ketamina, y no de salino (CORT + Salino basal *vs* postratamiento, $p < 0.01$; CORT + Salino 21 días *vs* postratamiento, $p > 0.05$), llevó a una recuperación a los niveles basales de información mutua entre el HPCd y la vmPFC (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p > 0.05$), elevándolos por encima de los obtenidos tras 21 días de administración de corticosterona (CORT + Ket 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.001$) y del grupo que había recibido salino (CORT + Salino postratamiento *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.01$).

El análisis de la información mutua en las otras bandas puso de manifiesto que no había diferencias significativas entre grupos en ningún otro rango de frecuencias (*grupo*. Theta bajo: $F_{1,9} = 0.74$; theta alto: $F_{1,9} = 0.59$; theta total: $F_{1,9} = 0.0003$; beta: $F_{1,9} = 4.05$, $p > 0.05$ en todos los casos. *días*. Theta bajo: $F_{2,18} = 2.52$; theta alto: $F_{2,18} = 0.9$; theta total: $F_{1,18,10.66} = 0.021$; beta: $F_{2,18} = 2.63$, $p > 0.05$ en todos los casos. *días*grupo*. Theta bajo: $F_{2,18} = 0.58$; theta alto: $F_{2,18} = 0.31$; theta total: $F_{1,18,10.66} = 0.027$; beta: $F_{2,18} = 2.71$, $p > 0.05$ en todos los casos), lo que demostró que los cambios en la información mutua general se debían principalmente a la disminución específicamente en SW.

De igual manera que la información mutua compartida entre ambas estructuras, el acoplamiento de fases (PLV) también se vio modificado por el tratamiento con corticosterona y posteriormente por la administración de ketamina (**Figura E-V.4B**). Al igual que en los resultados anteriores, los cambios se detectaron en el acoplamiento de fase en las frecuencias SW. El ANOVA alcanzó la significación estadística en el factor temporal (*días*: $F_{2,18} = 15$, $p < 0.001$) pero no en el factor *grupo* ($F_{1,9} = 0.79$, $p > 0.05$). También lo hizo en la interacción de ambos factores principales (*días*grupo*: $F_{2,18} = 3.69$, $p < 0.05$).

En primer lugar, el acoplamiento de fase comenzó en niveles similares para ambos grupos (CORT + Salino basal *vs* CORT + Ket basal, $p > 0.05$) y se redujo de manera similar en ambos a los 21 días (CORT + Salino basal *vs* 21 días, $p < 0.05$; CORT + Ket basal *vs* 21 días, $p < 0.001$). Sin embargo, tras la administración de ketamina/salino, el PLV en SW de aquellos animales que habían recibido ketamina era mayor que el registrado a los 21 días (CORT + Ket 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.001$) y se situó de nuevo en niveles equivalentes a los previos al tratamiento con corticosterona (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p > 0.05$). Por ello, aunque no hubo diferencias entre ambos grupos el día 23 (CORT + Salino *vs* CORT + Ket postratamiento, $p > 0.05$), los resultados anteriores permiten apuntar hacia un incremento del acoplamiento en aquellos animales que había recibido ketamina dado que, los animales que recibieron salino mantuvieron su PLV por debajo del nivel basal en este día (CORT + Salino basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$) e igual al de los 21 días (CORT + Salino 21 días *vs* postratamiento, $p > 0.05$).

Estos resultados están reflejados, también, en los diagramas de rosas de la parte derecha de la **Figura E-V.4B**. En ellos se puede observar cómo en el día basal de ambos grupos las barras del diagrama están principalmente agrupadas en una región. Sin embargo, tras el tratamiento con corticosterona este perfil desaparece, observándose una mayor dispersión de las barras. Tras la administración de ketamina el diagrama de ese grupo vuelve a mostrar un perfil similar al basal, mientras que la administración de salino mantiene un perfil similar al obtenido 21

días después de la administración.

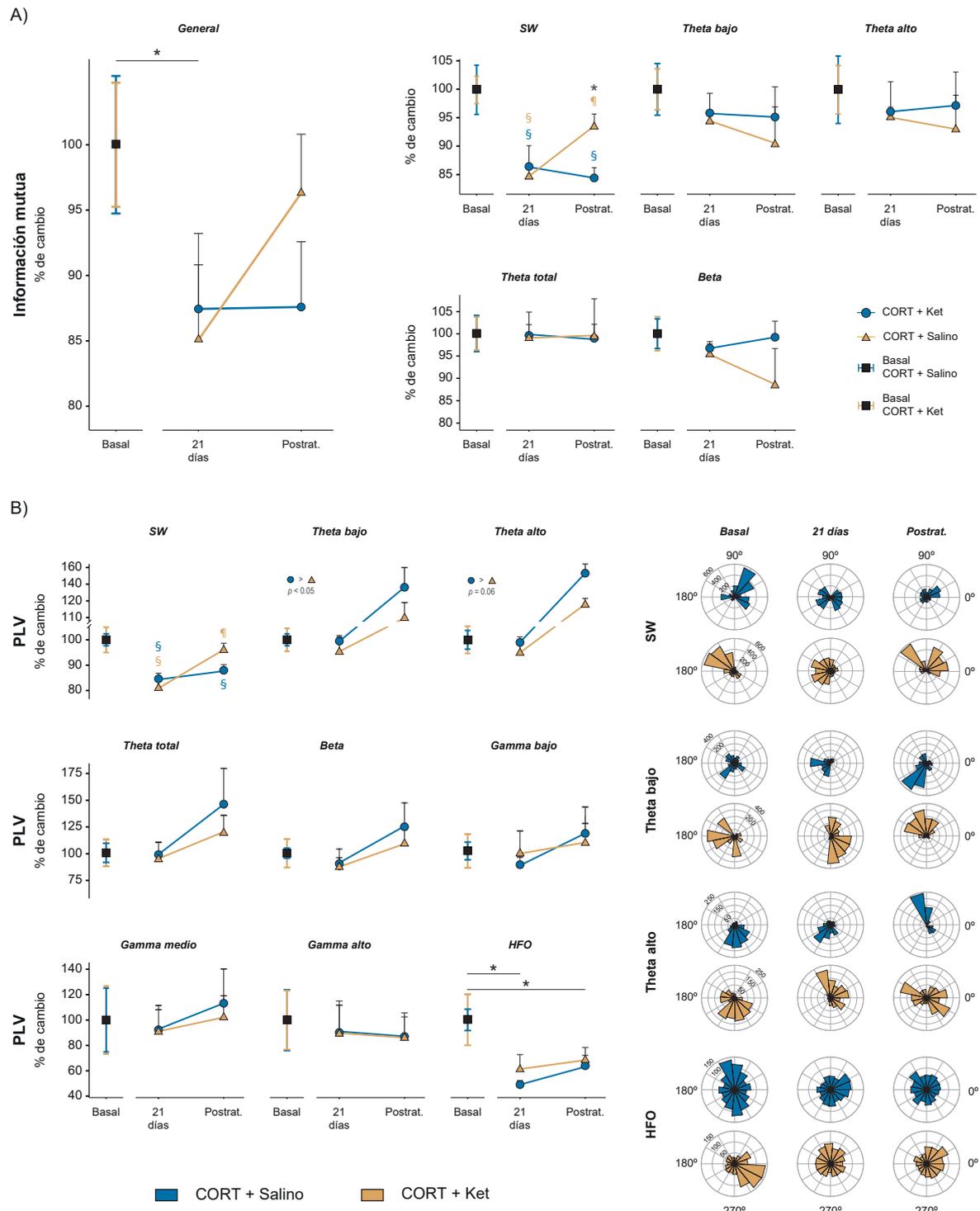


Fig. E-V.4: Cambios en la información mutua y el acoplamiento de fase entre el HPCd y la vmPFC. A) La información mutua general entre ambas estructuras se redujo de manera significativa en ambos grupos tras 21 días de tratamiento con corticosterona. (Continúa en la página siguiente).

Fig. E-V.4: (Continuación). 24 horas después de la administración de ketamina o salino, la información mutua entre ambas estructuras pareció recuperarse (de manera no significativa) en aquellos animales que habían recibido ketamina y no en los que recibieron salino. Para comprobar en qué oscilación se estaban produciendo esos las variaciones, la señal fue filtrada a diferentes rangos de frecuencia (SW, Theta bajo, Theta alto, Theta total y beta) y se pudo comprobar que el patrón de la información mutua general era debido, principalmente, a cambios en la SW: en ambos grupos se redujo la información mutua en estas frecuencias entre las estructuras; posteriormente, se recuperó en el grupo que había recibido ketamina, pero se mantuvo baja en aquellos animales que recibían salino. En el resto de oscilaciones mostraron cambios significativos. **B)** El acoplamiento de fase (PLV) entre ambas estructuras también se midió en todos los rangos de oscilación utilizados. Los cambios principales se dieron en las SW; 21 días después del tratamiento con corticosterona disminuyó el acoplamiento en estas frecuencia y se recuperó tras la administración de ketamina. En las frecuencia theta bajo y alto, el grupo control obtuvo un acoplamiento mayor en ambos días; y en las HFO donde ambos grupos disminuyeron su acoplamiento 21 y 23 días después del registro basal. En la parte derecha de la figura se pueden confirmar la modificación del PLV a través de diagramas de rosas donde la dispersión de las barras indica el grado de acoplamiento. Los datos están expresados a través de la media \pm SEM (en los registros basales) y media + SEM en los demás registros. Los grupos fueron comparados mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto y otro entre sujetos. Como prueba *post hoc* se utilizó el test de *Tukey*. §, ¶ o *, $p < 0.05$. Cada uno de los símbolos y su color indica una comparación diferente: §, comparación significativa con su registro basal; ¶, comparación significativa con su registro a los 21 días; y *, comparación significativa entre grupos dentro del mismo día. Los colores de § y ¶ indican sobre qué grupo se está aplicando la comparación. Los círculos y los triángulos situados encima de algunas gráficas representan la comparación estadística cuando solamente era significativo el factor *grupo* (todos los valores de ambos grupos promediados sin tener en cuenta el factor *días*).

En cuanto al resto de oscilaciones solamente se encontraron efectos del factor grupo para ambas frecuencias theta (*grupo*: theta bajo: $F_{1,9} = 6.6, p < 0.05$; theta alto: $F_{1,9} = 6.32, p < 0.05$. *días*: theta bajo, $F_{2,18} = 1.55$; theta alto, $F_{2,18} = 1.74$. *día*grupo*: theta bajo, $F_{2,18} = 1.73$; theta alto, $F_{2,18} = 1.79$. $p > 0.05$ en todos los casos) poniendo de manifiesto que en aquellos animales que habían recibido salino los valores de acoplamiento (cuando los valores eran promediados sin tener en cuenta el factor temporal), eran mayores y, especialmente, el día 23, mientras que en el grupo ketamina estos niveles fueron más bajos todos los días para ambos rangos de theta (theta bajo, $p < 0.05$; theta alto, $p = 0.06$. Esta comparación estadística está representada encima de las gráficas de la evolución temporal a través de un círculo y un triángulo) y podría indicar, aunque sin poderse confirmar, un incremento del acoplamiento en este rango de frecuencias en el grupo que no recibe ketamina. De nuevo, el cambio en el PLV está también representado en la parte derecha de la **Figura E-V.4B** a través de los diagramas de rosas. Concretamente, el día 23 se produce un incremento (para ambas frecuencias theta), ya que las barras se concentran principalmente en una parte del diagrama.

También fue significativo el factor temporal de las frecuencias HFO (*días*: $F_{1,16,10.42} = 5.89, p < 0.05$), pero no el factor *grupo* ($F_{1,9} = 1.33, p > 0.05$) ni la interacción entre ambos (*día*grupo*: $F_{1,16,10.42} = 0.53, p > 0.05$). En este caso, el tratamiento con corticosterona redujo el PLV en las frecuencias HFO en ambos grupos cuando era comparado con los valores basales (basal *vs* 21 días, $p < 0.01$; basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$) y, en esta ocasión, la ketamina no revirtió estas alteraciones. Los diagramas de rosas (**Figura E-V.4B**) ilustran estos cambios. 21 días después del tratamiento con corticosterona, las barras de los diagramas de rosa muestran valores más bajos y dispersos que los representados en el día basal. Esta distribución se mantiene también dispersa el día 23.

Por último, para el resto de oscilaciones ninguno de los factores principales, produjeron cambios en el PLV entre HPCd e vmPFC (*grupo*. Theta total: $F_{1,9} = 2.32$; beta: $F_{1,9} = 1.01$; gamma bajo: $F_{1,9} = 0.04$; gamma medio: $F_{1,9} = 0.59$; gamma alto: $F_{1,9} = 0.004$. *Días*. Theta total: $F_{2,18} = 1.13$; beta: $F_{2,18} = 1.02$; gamma bajo: $F_{2,18} = 0.78$; gamma medio: $F_{1,28,11.53} = 0.13$; gamma alto: $F_{1,15,10.33} = 0.16$. *Días*grupo*: $F_{2,18} = 1.08$; beta: $F_{2,18} = 0.44$; gamma bajo:

$F_{2,18} = 0.643$; gamma medio: $F_{1,28,11.53} = 0.08$; gamma alto: $F_{1,15,10.33} = 0.0008$. p valor en todos los casos < 0.05).

Los resultados de información mutua y PLV parecen indicar que el tratamiento con corticosterona provocaría una disminución de la comunicación entre ambas estructuras en SW y que la ketamina sería capaz de revertirlo. Por ello, a continuación, se decidió analizar si el acoplamiento de la amplitud de oscilaciones rápidas a la fase de las oscilaciones lentas (comodulación) entre HPCd y vmPFC podría estar también verse afectado por la depresión y qué efecto podría jugar también la administración de ketamina.

En primer lugar, cuando la fase de la SW la proporcionaba el HPCd y la amplitud era medida de la actividad rápida de vmPFC, se veían algunos cambios en el factor grupo y de algunos rangos de frecuencias gamma (*grupo*. 0.1-1 Hz con 65-70 Hz: $F_{1,9} = 11,01$, $p < 0.01$; 1-2 Hz con 115-120 Hz: $F_{1,9} = 8,99$, $p < 0.05$; 1-2 Hz con 130-135: $F_{1,9} = 5,92$, $p < 0.05$; 2-3 con 35-40 Hz: $F_{1,9} = 5,72$, $p < 0.05$; 2-3 con 130-135 Hz: $F_{1,9} = 6,83$, $p < 0.05$; y 2-3 con 195-200 Hz: $F_{1,9} = 7,07$, $p < 0.05$), pero en ninguno de los rangos se alcanzó la significación estadística en la prueba *post hoc* cuando las puntuaciones eran agrupadas en función del su grupo (Sin tener en cuenta el factor día. **Figura E-V.5** gráficos de violín). El resto de estadísticos del factor *grupo*, así como los del factor *días* y la interacción *días*grupo* pueden consultarse en la **Tabla Suplementaria Supl. 7 (Figura E-V.5)**.

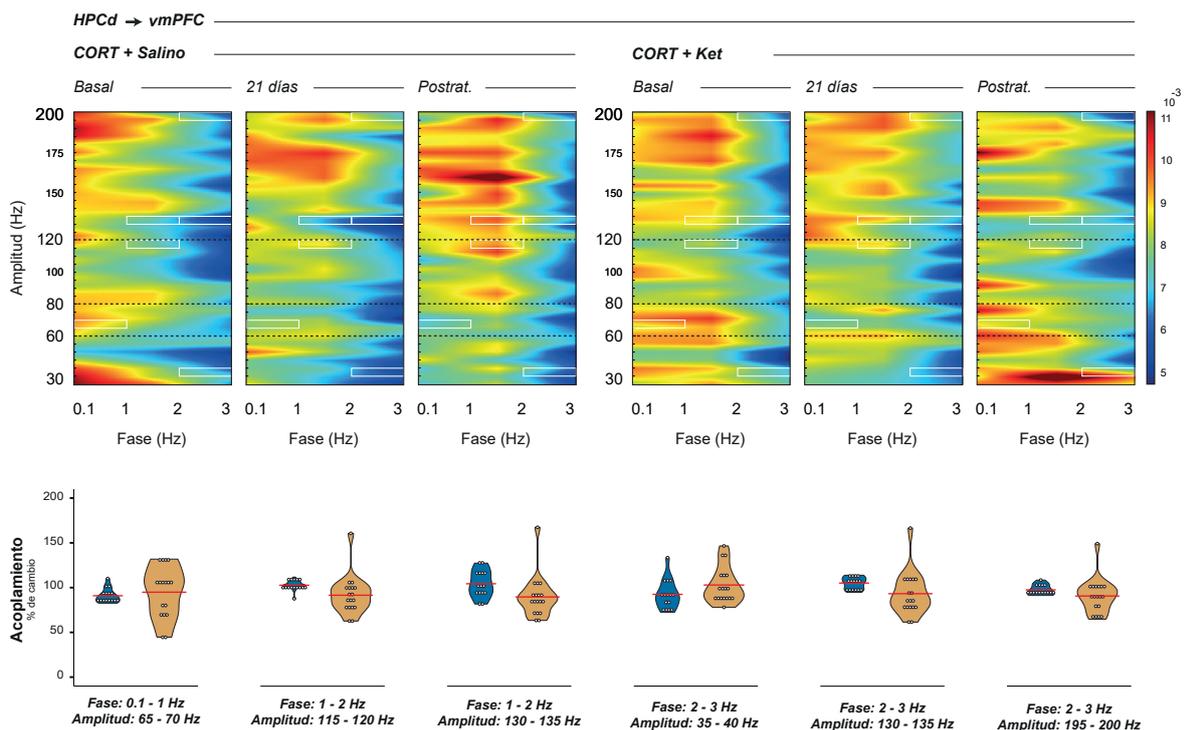


Fig. E-V.5: Acoplamiento entre las amplitud de las oscilaciones rápidas de vmPFC a la fase de las lentas de HPCd. Comodulogramas promedio de cada grupo a lo largo de los días de tratamiento. Los colores de los comodulogramas indican el valor de la comodulación, estando representados en colores rojizos aquellos valores más altos y en azul los más bajos. En el eje de las abscisas está representada la oscilación de la que se considera la fase, en este caso proporcionada por el HPCd, y en el de ordenadas los valores de frecuencias de aquellas en las que se mide la amplitud, en este caso de oscilaciones rápidas de vmPFC(Continúa en la página siguiente).

Fig. E-V.5: (Continuación). Los cuadrados blancos muestran aquellas regiones en las cuales el factor *grupo* del ANOVA mixto fue estadísticamente significativo. La comodulación entre estructuras se alteró en frecuencias situadas entre el rango gamma bajo, medio, alto y las HFO, sin embargo, ninguno de estos cambios fue significativo al aplicar la prueba *post hoc*. Cada rango de frecuencias fue comparado mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto (*días*) y otro entre sujetos (*grupo*). Como prueba *post hoc* se utilizó el test de Tukey.

En el caso contrario, es decir cuando se midió el acoplamiento de la amplitud de las oscilaciones gamma de HPCd a las SW de vmPFC (**Figura E-V.6**), el ANOVA sí que se obtuvieron diferencias significativas en el factor *días* (**0.1-1 Hz** con 30-35 Hz: $F_{2,18} = 7.21, p < 0.01$; 35-40 Hz: $F_{2,18} = 8.176, p < 0.01$; con 40-45 Hz: $F_{1.21,10.85} = 6.22, p < 0.05$; y con 45-50: $F_{2,18} = 4.78, p < 0.05$. **1-2 Hz** con 50-55 Hz: $F_{2,18} = 4.01, p < 0.05$. **2-3 Hz** con 45-50 Hz: $F_{2,18} = 3.69, p < 0.05$; y con 50-55 Hz: $F_{1.14,10.3} = 6.87, p < 0.05$) y en el factor *grupo* (**0.1-1 Hz** con 30-35 Hz: $F_{1,9} = 5.49, p < 0.05$; y con 40-45 Hz: $F_{1,9} = 4.84, p = 0.05$. **1-2 Hz** con 50-55 Hz: $F_{1,9} = 9.69, p < 0.05$; 70-75 Hz: $F_{1,9} = 4.92, p = 0.05$; con 80-85 Hz: $F_{1,9} = 16.77, p < 0.01$; con 105-110 Hz: $F_{1,9} = 12.59, p < 0.01$; con 125-130 Hz: $F_{1,9} = 11.01, p < 0.05$; con 130-135 Hz: $F_{1,9} = 17.28, p < 0.01$; con 135-140 Hz: $F_{1,9} = 5.99, p < 0.01$; con 140-145 Hz: $F_{1,9} = 4.85, p = 0.05$; y con 145-150 Hz: $F_{1,9} = 8.64, p < 0.05$. **2-3 Hz** con 45-50 Hz: $F_{1,9} = 4.83, p = 0.05$; con 50-55 Hz: $F_{1,9} = 5.15, p < 0.05$; con 80-85 Hz: $F_{1,9} = 4.63, p = 0.06$; con 105-110 Hz: $F_{1,9} = 9.59, p < 0.05$; con 115-120 Hz: $F_{1,9} = 4.41, p = 0.06$, con 130-135 Hz: $F_{1,9} = 7.83, p < 0.05$; con 135-140 Hz: $F_{1,9} = 3.55, p = 0.05$; con 140-145 Hz: $F_{1,9} = 5.14, p < 0.05$; y con 145-150: $F_{1,9} = 7.98, p < 0.05$), así como la interacción de ambos (**0.1-1 Hz** con 30-35 Hz: $F_{2,18} = 4.15, p < 0.05$; con 35-40 Hz: $F_{2,18} = 5.526, p < 0.05$; con 40-45 Hz: $F_{1.21,10.85} = 6.18, p < 0.05$; con 45-50 Hz: $F_{2,18} = 4.31, p < 0.05$; y con 50-55 Hz: $F_{1.18,10.61} = 4.04, p = 0.06$. **1-2 Hz** con 40-45 Hz: $F_{2,18} = 4.60, p < 0.05$; y con 50-55 Hz: $F_{2,18} = 3.82, p < 0.05$. **2-3 Hz** con 35-40 Hz: $F_{1.19-10.73} = 4.57, p = 0.05$; con 45-50 Hz: $F_{2,18} = 4.47, p < 0.05$; y con 50-55 Hz: $F_{1.14-10.3} = 5.78, p < 0.05$) para un amplio rango de frecuencias. Estos resultados indicaron alteraciones en el acoplamiento entre estructuras, que dependían tanto del tratamiento con corticosterona como de la administración de ketamina/salino (**Figura E-V.6A**). El resto de comparaciones estadísticas se pueden consultar en la **Tabla Suplementaria Supl. 8**.

En los análisis *post hoc* realizados para el factor *grupo* (gráficos de violín de la **Figura E-V.6B**. Valores agrupados sin tener en cuenta el factor *días*), solamente aquellos situados entre los 1-2 Hz con 130-145 Hz y 2-3 Hz con 140-145 Hz, alcanzaron la significación estadística ($p < 0.05$) y en ambos casos se obtuvieron puntuaciones más altas de comodulación en el grupo en el CORT + Salino. En el resto de rangos, significativos para el factor principal grupo (Gráficos de violín de la **Figura E-V.6B**), las medias del acoplamiento de aquellos animales que habían recibido salino también fueron mayores en todos los casos, sin embargo, no se alcanzó la significación estadística en ninguna comparación más ($p > 0.05$).

Las interacciones de factores (*días*grupo*) significativas se encontraron principalmente en el gamma bajo (**Figura E-V.6C**). En todos los casos, lo que se vio fue que la ketamina produjo un aumento del acoplamiento de este gamma a las SW a las 24 horas de su administración. Sin embargo, cuando la oscilación que aportaba la fase era 0.1-1 Hz solamente fue diferente el acoplamiento con respecto a su niveles basales (0.1-1 Hz con 30-35 Hz; 35-40 Hz; 40-45 Hz; y 45-50 Hz: CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$) salvo en el rango 50-55 Hz donde no hubo ninguna comparación por parejas significativa ($p > 0.05$). El resto de comparaciones no alcanzaron la significación estadística ($p > 0.05$).

Al rango 1-2 Hz también se le acoplaron las oscilaciones 45-50 Hz y 50-55 Hz a las 24 horas después de la administración de ketamina, aunque solamente en los 50-55 Hz se encontraron diferencias significativas.

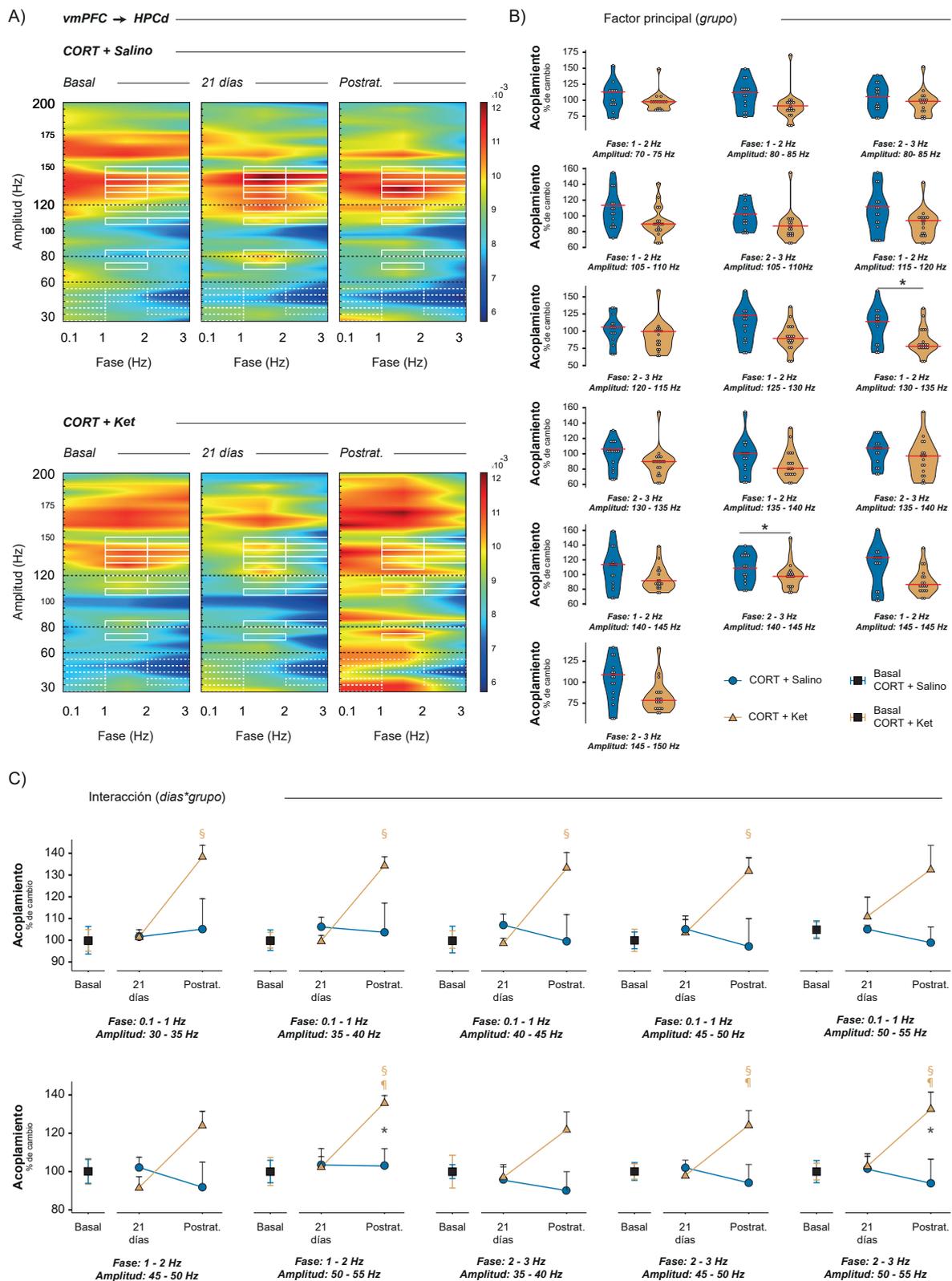


Fig. E-V.6: Acoplamiento entre las amplitud de las oscilaciones rápidas de HPCd a la fase de las lentas de vmPFC. A) Comodulogramas promedio de cada grupo a lo largo de los días de tratamiento. Los colores indican el valor de la comodulación estando representados en colores rojizos aquellos valores más altos y en azul los más bajos. (Continúa en la página siguiente).

Fig. E-V.6: (Continuación). En el eje abscisas está representada la oscilación de la que se considera la fase, en este caso proporcionada por el vmPFC, y en el de ordenadas los valores de frecuencias de aquella de la que se mide la amplitud, en este caso de oscilaciones rápidas de HPCd. Los cuadrados blancos muestran aquellas regiones en las cuales el factor *grupo* del ANOVA mixto mostró significación estadística. Los cuadrados blancos con líneas discontinuas marcan aquellas regiones donde la interacción de ambos factores donde el ANOVA mixto alcanzó la significación estadística. **B)** Las comparaciones estadísticas del factor grupo, representadas en los gráficos de violín, únicamente mostraron cambios en las fases 1-2 y 2-3 Hz con 130-135 Hz y 140-145 Hz respectivamente mostrando en ambos casos un acoplamiento mayor de aquellos animales que recibirían salino el día 23 del experimento. El resto de comparaciones, aunque no alcanzaron la significación estadística, también mostraron un perfil similar donde el grupo con salino obtenía puntuaciones medias (línea roja) mayores altas de comodulación. **C)** Las comparaciones estadísticas de la interacción de ambos factores principales revelaron un incremento de la comodulación de las frecuencias gamma bajo del HPCd con la SW de la vmPFC 24 horas después de la administración de la ketamina. Este cambio se produjo mayoritariamente cuando era comparada la comodulación con la obtenida el día basal. Cada rango de frecuencias fue comparado mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto (*días*) y otro entre sujetos (*grupo*). Como prueba *post hoc* se utilizó el test de Tukey. §, ¶ o *, $p < 0.05$. Cada uno de los símbolos y su color indica una comparación diferente: §, comparación significativa con su registro basal; ¶, comparación significativa con su registro a los 21 días; y *, comparación significativa entre grupos dentro del mismo día. Los colores de § y ¶ indican sobre qué grupo se está aplicando la comparación.

Concretamente en el último rango (50-55 Hz) la administración de ketamina aumentó el acoplamiento con respecto a los niveles basales (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$), los obtenidos 21 días después (CORT + Ket a los 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.05$) y respecto a grupo que había recibido salino el día 23 (CORT + Ket *vs* CORT + Salino postratamiento, $p < 0.05$).

Por último, en la fase del rango 2-3 Hz se produjo un acoplamiento significativo con las frecuencias 35-40 Hz, 45-50 Hz y 50-55 Hz. En el primero de los rangos, 35-45 Hz, ninguna de las comparaciones en la prueba *post hoc* fue significativa. Para el rango situado en 45-50 Hz del grupo que había recibido ketamina se vio un incremento el día 23 en comparación con su registro basal (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$) y con su registro realizado a los 21 días (CORT + Ket 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.05$). El resto de comparaciones no alcanzaron la significación estadística ($p > 0.05$). Para finalizar, la administración de ketamina también aumentó el acoplamiento del rango 50-55 del grupo CORT + Ket el día 23 con respecto a su niveles basal (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$), el obtenido 21 días después (CORT + Ket 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.05$) y respecto a grupo que había recibido salino el día 23 (CORT + Ket *vs* CORT + Salino postratamiento, $p < 0.05$). Al igual que en el rango anterior, el resto de comparaciones no alcanzaron la significación estadística ($p > 0.05$).

En conjunto, estos resultados estarían indicando que el tratamiento con corticosterona no afecta al acoplamiento fase amplitud entre estructuras, pero sin embargo la administración de ketamina sí lo hace, incrementando el acoplamiento de frecuencias gamma, en concreto gamma bajo de HPCd, a las oscilaciones lentas de vmPFC.

El tratamiento crónico con corticosterona provoca un descenso de la proporción de sueño de onda lenta, y la ketamina revierte esta alteración

La arquitectura del sueño también se vio modificada tras el tratamiento con corticosterona (**Figura E-V.7A y B**). En esta ocasión, el análisis estadístico reveló que el tratamiento con corticosterona y la administración de ketamina afectaban a todas las variables medidas: proporción de SWS (*grupo*: $F_{1,9} = 6.45$, $p < 0.05$; *días*: $F_{2,18} = 5.87$, $p < 0.05$; e interacción *días*grupo*: $F_{2,18} = 10.49$, $p < 0.001$), de REM (*grupo*: $F_{1,9} = 18.47$, $p < 0.01$; *días*: $F_{1.22,10.99} = 15.62$, $p < 0.01$; e interacción *días*grupo*: $F_{1.22,10.99} = 16.85$, $p < 0.001$) y de microdesper-

tares (*grupo*: $F_{1,9} = 6.49, p < 0.05$; *días*: $F_{2,18} = 3.73, p < 0.05$; e interacción *días*grupo*: $F_{2,18} = 3.22, p = 0.06$)

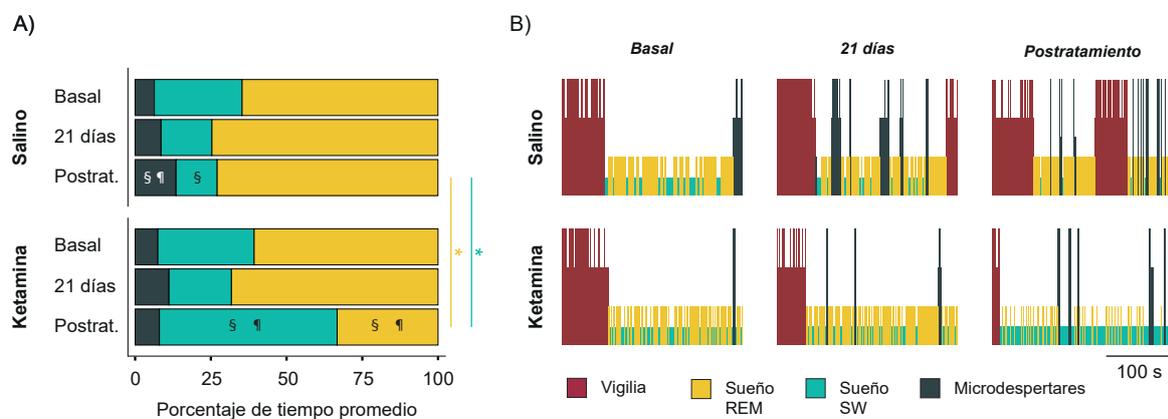


Fig. E-V.7: Cambios en la arquitectura del sueño tras el tratamiento con corticosterona y la administración de ketamina. A) La ketamina aumentó el porcentaje de sueño SWS y disminuyó el de REM a las 24 horas de su administración con respecto a su registro basal y el obtenido a los 21 días. Estas diferencias se hacen más significativas el día 23: en el grupo salino disminuye la proporción de sueño SWS, al compararlo con su registro basal. En este grupo también aumentan el número de microdespertares cuando el día postratamiento es comparado sus registro anteriores. En la figura **B** se puede observar, a través de casos representativos, estas variaciones a través de un fragmento de los estados por los que pasa el animal a lo largo del registro. Cada tipo de sueño y los microdespertares de frecuencias fue comparado mediante un ANOVA Mixto con un factor intra-sujeto (*días*) y otro entre sujetos (*grupo*). Como prueba *post hoc* se utilizó el test de *Tukey*. §, ¶ o *, $p \leq 0.05$. Cada uno de los símbolos y su color indica una comparación diferente: §, comparación significativa con su registro basal; ¶, comparación significativa con su registro a los 21 días; y *, comparación significativa entre grupos dentro del mismo día. Los colores de los * indican sobre qué tipo de sueño se está aplicando la comparación.

En primer lugar, el día 21 días, tras el tratamiento con corticosterona se puede ver que el porcentaje de sueño REM aumentó y el de SWS disminuyó en ambos grupos (aunque estos cambios no son estadísticamente diferentes a los valores en el sueño basal; $p > 0.05$). Este efecto se consolida a nivel de SW el día 23: en aquellos animales que habían recibido salino, se confirmaba estadísticamente que el porcentaje de SW disminuía con respecto a sus niveles basales (CORT + Salino basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$). En cambio, la administración de ketamina en el grupo CORT + Ket provocó un aumento de la proporción de sueño SWS en comparación con su registro basal (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p < 0.001$) y con los valores del día 21 días (CORT + Ket 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.001$).

El día 23, siguió sin confirmarse estadísticamente en el grupo salino el aumento de REM, (CORT + Salino basal postratamiento, $p > 0.05$), pero si se refleja una disminución estadísticamente significativa en el grupo ketamina, tanto en comparación con su registro basal (CORT + Ket basal *vs* postratamiento, $p < 0.001$) y a los 21 días (CORT + Ket 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.001$). **Figura E-V.7A y B).**

El efecto de la ketamina en la arquitectura del sueño SWS y REM fue confirmado también cuando se compararon los valores de ambos grupos el día 23, después la administración de ketamina y salino (SWS y REM: CORT + Salino *vs* CORT + Ket en el día postratamiento, $p < 0.001$) El resto de comparaciones no alcanzaron la significación estadística ($p > 0.05$). **Figura E-V.7A y B).**

Con respecto al porcentaje de microdespertares, se detectó un ligero aumento de esta variable

a los 21 días de comenzar el tratamiento de corticosterona, aunque, no fue significativo ($p > 0.05$). Sin embargo, el día 23 de registro, los microdespertares del grupo CORT + Salino aumentaron enormemente cuando fueron comparados con su registro basal (CORT + Salino basal *vs* postratamiento, $p < 0.05$) y el obtenido a los 21 días (CORT + Salino 21 días *vs* postratamiento, $p < 0.05$). Este aumento también resulto significativo el día 23 cuando se comparó con aquellos animales que había recibido ketamina (CORT + Salino *vs* CORT + Ket postratamiento, $p < 0.05$). El tratamiento con ketamina produjo una disminución moderada de los microdespertares el día 23 sin embargo, a nivel estadístico se mantuvieron igual que en el registro basal y a los 21 días ($p < 0.05$. **Figura E-V.7A y B**). Estos resultados podrían estar indicando que, mantener el tratamiento con corticosterona más allá de los 21 días, esté provocando también una fragmentación del sueño (mayor número de microdespertares) que la ketamina bloquearía.

Discusión

A partir de los resultados de los experimento I pudimos concluir que, de las dos dosis estudiadas, la que presentaba un mejor balance efectos beneficiosos/perjudiciales era la de 5 mg/kg, puesto que a igual efecto antidepresivo e igual capacidad para activar cascadas moleculares de plasticidad, daba lugar a menor sintomatología psicótica que la de 30 mg/kg. Este potencial antidepresivo se manifestaba a las 2 y las 24 horas después de su administración, pero no a la semana.

A partir de ahí en este segundo bloque de experimentos pusimos a punto un modelo de depresión en ratón tras la administración crónica de corticosterona (experimento IV) para poder estudiar sobre él dos aspectos: la efectividad de la dosis de 5 mg/kg como antidepresivo a las 2 y las 24 horas, y la actividad eléctrica de las áreas de interés a lo largo del experimento, incluyendo el análisis de la estructura del sueño, para tratar de determinar así posibles biomarcadores tanto del estado depresivo inducido por la administración con corticosterona, como del efecto antidepresivo de 5 mg/kg de ketamina (experimento V). Estos experimentos se llevaron a cabo en hembras, puesto que la depresión es una patología eminentemente femenina, y poco estudiada en modelos animales hembra.

Partíamos por lo tanto de la hipótesis de que el desarrollo de un estado depresivo en ratones hembra tras la administración crónica de corticosterona sería detectable a través de alteraciones conductuales, del patrón oscilatorio en los registros de actividad neuronal del circuito HPCd-vmPFC y en la arquitectura del sueño.

El tratamiento crónico con corticosterona induce conductas de tipo depresivo y ansioso. La administración aguda de 5 mg/kg de ketamina revierte estos efectos

La administración crónica de corticosterona se emplea ampliamente en la literatura (D. J. David et al., 2009; Donkelaar et al., 2014; Ding et al., 2018; S. Berger et al., 2019; Dieterich et al., 2019; L. Lin et al., 2022) para inducir estas conductas de tipo depresivo, y también ansioso. Este elemento es interesante, puesto que es bien conocida la elevada comorbilidad entre ansiedad y depresión (Kessler et al., 2008; Beesdo et al., 2010), siendo la propia ansiedad un síntoma en el 90 % de los trastornos depresivos (Regier et al., 1998; Morilak & Frazer, 2004). En concreto, nos basamos, en el protocolo de D. J. David et al. (2009) de manera que, en este experimento, un grupo de animales recibió el tratamiento con 35 μ g/ml (diarios) de corticosterona, y el otro grupo el vehículo en que ésta va disuelta. En ambos grupos la administración es a través de los biberones que tiene cada jaula. Según nuestro diseño, el desarrollo de conductas de tipo depresivo fue comprobado intra y entre grupos, mediante la realización de dos TST, uno antes y otro 21 días después del inicio del tratamiento, y entre grupos mediante la realización de un *Novelty* y un FST después del tratamiento. Además, se ratificó el desarrollo de conducta ansiosa mediante la comparación entre grupos de las puntuaciones obtenidas en un *OMaze* al final del tratamiento.

Como se dijo anteriormente, el experimento V pretendía abordar dos objetivos fundamentales: en primer lugar comprobar si una única dosis de 5 mg/kg podía revertir la sintomatología de tipo depresivo y ansioso generada por el tratamiento con corticosterona, y, en segundo lugar, estudiar la actividad eléctrica subyacente del circuito HPCd-vmPFC tanto del estado depresivo/ansioso como el posterior a la administración de la ketamina, y ver así si las posibles mejoras a nivel conductual iban acompañadas de mejoras/cambios en la actividad neuronal de estas estructuras.

Por ello, en este caso, todos los animales recibieron el tratamiento crónico con corticosterona, pero el día 22 del experimento, la mitad recibió 5 mg/kg de ketamina y la otra mitad salino, esperando ver mejoras solo en el grupo con ketamina. Sobre todos estos animales se llevaron a cabo las mismas pruebas conductuales realizadas en el experimento IV, de manera que, por comparación intra y entre de los datos del experimento V, y entre, con los del experimento IV, se comprobó: la eficacia del tratamiento con corticosterona para generar depresión también en los animales de este segundo experimento, y que el tratamiento con ketamina revertía las conductas de tipo depresivo/ansioso a las 2 horas y el depresivo a las 24 horas. Para poder hacer estas comprobaciones, algunos de los tests del experimento V se realizaron con una temporalidad diferente a la programada en el experimento IV. En concreto, el *Novelty* y el *OMaze* se llevaron a cabo 2 horas después de haber administrado a los ratones salino o ketamina (día 22), para comprobar la efectividad del tratamiento con ketamina a este tiempo, y el FST se hizo al día siguiente (día 23) para estudiar la posible duración del efecto beneficioso de este compuesto sobre la conducta a las 24 horas.

Así, los resultados del experimento V muestran que una sola dosis de ketamina a 5 mg/kg revierte las conductas de tipo ansioso y de tipo depresivo a las 2 horas después de su administración, y que el efecto antidepresivo se mantiene a las 24 horas.

Los test elegidos para evaluar las conductas depresivas y ansiosas inducidas por la corticosterona y el efecto antidepresivo de la ketamina en nuestros experimentos están ampliamente empleados en la literatura con estos fines. Como se dijo en la discusión del experimento I, tradicionalmente TST y FST han sido utilizados como pruebas de cribado de antidepresivos debido a su alta reproductibilidad y validez (Petit-Demouliere et al., 2005; C. H. Duman, 2010; Autry et al., 2011; Castagné et al., 2011; Stukalin et al., 2020). Sin embargo, también han sido usados para medir depresión, concretamente el componente de desesperación conductual (Sáenz et al., 2006; Waters & McCormick, 2011; Lopatina et al., 2014; M. M. Santana et al., 2015; Ferreira et al., 2018; S. Berger et al., 2019; Gardner et al., 2022; Choudhary et al., 2023; X. Li et al., 2023).

Un elemento que se suele medir para evaluar conductas depresivas es la anhedonia, habitualmente empleando el test de preferencia por sacarosa (Strekalova & Steinbusch, 2009; Eagle et al., 2016; M. Y. Liu et al., 2018). En nuestros experimentos, se eligió el *Novelty*, porque era el test utilizado en el artículo de referencia (D. J. David et al., 2009), pero también para evitar complejidad a nivel experimental. El tratamiento de la corticosterona se administra en biberón igual que la sacarosa en el test de preferencia por ésta, y se ha visto que, durante la habituación a la sacarosa, puede verse reducido el consumo de agua (lo que reduciría el consumo de corticosterona en nuestro caso; Richter & Campbell, 1940; Markov, 2022). Además, la privación necesaria para llevar a cabo el *Novelty* también puede afectar al consumo de sacarosa (Forbes et al., 1996; Hatcher et al., 1997; Fonseca-Rodrigues et al., 2022). Por eso, debido a estas limitaciones, decidimos no realizar este test.

Por último, el *Novelty* ha demostrado su alta eficacia en el uso de antidepresivos de acción rápida, y en particular ha demostrado su validez para estudiar los efectos de la ketamina (Stedenfeld et al., 2011; Fukumoto et al., 2014; Camargo et al., 2019; Pazini et al., 2020; X. H. Tang et al., 2020), lo que confirma su idoneidad para abordar los objetivos de nuestro experimento.

El tratamiento crónico con corticosterona altera la actividad neuronal de vmPFC e HPCd y la administración aguda de 5 mg/kg de ketamina revierte algunos de estos cambios

En el experimento V se llevaron a cabo registros electrofisiológicos antes y después del tratamiento con corticosterona, y a las 24 horas de haber administrado la ketamina. Los análisis de estos datos nos permiten describir una actividad eléctrica de HPCd y vmPFC basal, así como otra sustrato al estado de tipo depresivo, y la subyacente a la mejora sintomatológica observada a las 24 horas. En concreto, se estudiaron variaciones en las potencias de las bandas de frecuencia de interés y acoplamientos fase-amplitud de las oscilaciones de las áreas estudiadas, así como cambios de la comunicación entre ellas con respecto de la actividad basal. Entre los cambios producidos destacan las alteraciones en la SW, theta y gamma, además de los cambios en información mutua, el PLV y la comodulación entre estructuras.

La manifestación de conductas de tipo depresivo va acompañada de una disminución en la potencia de las oscilaciones lentas en vmPFC y de la comunicación en esta oscilación entre las estructuras estudiadas. La mejora sintomatología observable a las 24 horas de la administración de 5 mg/kg se refleja en la recuperación de estas alteraciones de la actividad eléctrica

El experimento V mostró, en primer lugar, que la corticosterona provocaba un descenso de la potencia de la SW en la vmPFC. La disminución de la cantidad de esta oscilación iba acompañada de una reducción en la información mutua y el PLV en esta misma oscilación, entre esta área y el HPCd. La administración aguda de 5 mg/kg de ketamina devolvió todas estas variables a su nivel basal.

Como se ya se dijo en la discusión del apartado anterior, la SW ha sido descrita como la actividad por defecto de la corteza cerebral (Steriade, Contreras et al., 1993; Timofeev & Steriade, 1996; Sanchez-Vives & Mattia, 2014) siendo muy relevante su papel en la coordinación de diferentes áreas cerebrales (Ruiz-Mejias et al., 2011; Sanchez-Vives & Mattia, 2014; Hauer et al., 2019). Por ello, disminuciones en estas frecuencias reflejarían una disminución de la coordinación con otras estructuras (Murphy et al., 2009; Roohi-Azizi et al., 2017; Dash, 2019).

Y de hecho, y en coherencia con nuestros resultados, esta oscilación se ha visto reducida en diferentes trastornos en humanos, como son la depresión mayor o la esquizofrenia (Borbély et al., 1984; Keshavan et al., 1998; Hoffmann et al., 2000; Wienbruch et al., 2003; Plante et al., 2012; Goldschmied et al., 2014) y también en modelos animales de patologías de esta naturaleza (Czéh et al., 2016). Además, se ha demostrado que los tratamientos utilizados para tratar la depresión restablecen, e incluso aumentan, la actividad en estas frecuencias (Ehlers et al., 1996; Nissen et al., 2006; Duncan et al., 2013; Cervera-Ferri et al., 2016). Por esta razón los cambios en la SW han sido propuestos como biomarcadores tanto de la patología de depresión como del efecto antidepresivo de la ketamina (Duncan & Zarate, 2013b).

Por otro lado, hemos visto que acompañando al estado depresivo, se reduce la información mutua entre HPCd y vmPFC en estas frecuencias, siendo la comunicación entre estas regiones fundamental para el funcionamiento óptimo del cerebro. De hecho, se ha demostrado que está alterada en trastornos depresivos, por ejemplo, Baxendale et al. (2005) y Kemmotsu et al. (2013) observaron que los pacientes con epilepsia localizada en el HPC mostraban alteraciones en la comunicación entre HPC y PFC, lo que correlacionaba con una alta prevalencia de la depresión. Además, se ha comprobado que la comunicación HPC-vmPFC mejora tras el tratamiento antidepresivo, como demostraron Carreno et al. (2015), quienes utilizaron la

optogenética y la quimiogenética para demostrar que la activación selectiva de la vía mPFC-vHPC daba lugar a una respuesta de tipo antidepresivo comparable a la observada con dosis subanestésicas de ketamina. Años más tarde, Komulainen et al. (2021) también encontraron un aumento de la sincronización entre la corteza prefrontal y otras estructuras en pacientes que recibieron durante una semana tratamiento con escitalopram, un IRSS.

En cuanto a la comunicación en oscilaciones lentas en particular, a pesar de que no existe mucha bibliografía, algunos trabajos apuntan hacia cambios parecidos a los nuestros. Por ejemplo, C. A. Park et al. (2007) describieron una menor sincronización en la banda delta entre áreas frontales y temporales en pacientes con depresión, y años más tarde, Zuchowicz et al. (2019) encontraron incrementos en el PLV en la banda delta en regiones frontales en aquellos pacientes que respondían a la estimulación magnética transcraneal como tratamiento antidepresivo. Por último, recientemente, y en concordancia con estos resultados Nugent et al. (2020), también reportaron aumentos en la conectividad entre áreas frontales y subcorticales, registrándose, en concreto, oscilaciones lentas en las áreas frontales y otras oscilaciones de mayor frecuencia en las subcorticales.

En conclusión, por todo lo explicado, nuestros resultados podrían estar confirmando que las disminuciones, tanto en la potencia, como el PLV, como la información mutua en oscilaciones lentas podrían marcadores del estado depresivo inducido por la exposición crónica a corticosterona, y su posterior normalización lo sería de la eficacia del tratamiento con 5 mg/kg de ketamina.

La manifestación de conductas de tipo depresivo va acompañada de cambios en la oscilación theta; la administración de 5 mg/kg evita algunos de estos cambios

Tras el tratamiento con corticosterona también se observaron cambios en el rango theta, en las dos estructuras estudiadas. El efecto más significativo es que la potencia de la banda theta global aumentó en HPCd y vmPFC. El efecto de la ketamina fue, en este caso, frenar el incremento en estas potencias, ya que en los animales que recibieron el salino, la potencia de la banda theta continuó aumentando, mientras que esto no ocurrió en los animales a los que se les inyectó el compuesto.

Como se ha descrito en la discusión del capítulo anterior, existe mucha bibliografía que muestra incrementos en la banda theta, concretamente en el theta bajo (3-6 Hz), en relación a procesos de ansiedad. De hecho, como se dijo anteriormente, trabajos de nuestro laboratorio (Merino et al., 2021; Vila-Merkle et al., 2021) han demostrado la relación entre esta oscilación y la ansiedad. Además, en el experimento III, también detectamos aumentos en esta banda, que hemos discutido como sustrato del posible estado ansioso que podría ir asociado al psicótico durante los primeros minutos de efecto de la ketamina. Además, como también se ha comentado previamente en esta Tesis Doctoral, la ansiedad y la depresión tienen una alta comorbilidad, por lo que es de esperar que en ambas patologías se encuentren actividades comunes.

Por lo tanto, consideramos que estos aumentos de theta que registramos en el experimento V fueran sustrato electrofisiológico del componente ansioso observado en nuestros animales y que el hecho de que la ketamina frene su aumento podría ser el reflejo de las mejoras conductuales en este aspecto.

En concordancia, la actividad theta se encuentra aumentada en PFC (Ishii et al., 1999), especialmente en ACCsg (análoga a IL de vmPFC en roedores), en depresión (Mayberg et al., 1999; Coutin-Churchman & Moreno, 2008; Pizzagalli, 2010; Köhler et al., 2011; Jaworska et

al., 2012). Además, se ha considerado que, en particular, esta actividad de PFC se daría en respuesta a los incrementos de potencia en estas frecuencias que se registran en áreas del lóbulo temporal (hipocampo y la amígdala) en estados depresivos en relación al componente ansiogénico de estas patologías (Pizzagalli, 2010).

Además de los cambios en potencia, también se encontró un aumento del PLV en la banda theta bajo y alto entre ambas estructuras estudiadas en los animales que reciben salino, pero no en los que son tratados con ketamina. Este aumento de sincronización, como se ha discutido en el apartado de ketamina, también se relaciona con la coordinación de las estructuras entre las que tiene lugar de información de tipo ansioso (Adhikari et al., 2010, 2011; Padilla-Coreano et al., 2016, 2019). Por lo tanto, el aumento de PLV en theta a podrían ser también sustrato del componente ansioso de la depresión y, la administración de ketamina a a 5 mg/kg lo frenaría.

Tanto la manifestación de conductas de tipo depresivo como la administración de ketamina se acompañan de alteraciones en la banda gamma, pero estos cambios no parecen estar relacionados entre sí

Uno de los resultados obtenidos en relación a las oscilaciones rápidas, es la disminución del PLV entre HPCd y vmPFC en las frecuencias HFO (> 120 Hz), tras la administración crónica de corticosterona. Resultados similares han sido descritos previamente por otros autores, como Golden & Chadderton (2022), que reportaron también descensos en el PLV entre la oscilación gamma y la actividad neuronal de la ACC, tras la administración de psilocibina, un compuesto alucinógeno. N. Gao et al. (2021), reportaron que tras administrar angiotensina II (que también induce un estado ansiogénico) se producía una disminución significativa del PLV theta/gamma entre la vía perforante del HPC y el giro dentado y, recientemente, Deng et al. (2022), observaron en humanos con ansiedad social, cómo el acoplamiento de fase en frecuencias gamma en zonas parietales de la corteza se encontraba disminuido.

En el experimento III observamos incrementos en la sincronía en fase que correlacionaban con el estado psicótico y que proponíamos, y discutíamos, como un funcionamiento aberrante sustrato del daño cognitivo. Dado que en ambos casos (estado depresivo/psicótico) podemos asumir daño cognitivo (Yener & Başar, 2013), podría parecer que estos resultados no fueran coincidentes. Un hecho que podría explicar esta aparente incoherencia es que no se trata de la misma actividad rápida, sino de frecuencias distintas. Y de hecho, otros autores, como Tabassum et al. (2022) encontraron que tras aplicar un procedimiento de estrés impredecible, se producía un aumento del PLV en las frecuencias gamma bajo (30-70 Hz) y alto (70-100 Hz) entre la PFC y el HPC, demostrando que estas actividades gamma afectadas no se encontraban en el mismo rango de frecuencia.

Por lo tanto, los resultados encontrados en la bibliografía, aunque sean opuestos, refuerzan la idea de la relevancia que tiene el estudio de la actividad entre estructuras, en este caso acoplamiento de fase, en relación los procesos patológicos. En cualquier caso, la administración de ketamina no revirtió los cambios en PLV en HFO en nuestro experimento, por lo que, aunque pudiéramos considerarlo marcador del estado depresivo/ansioso, no lo sería del efecto antidepressivo de la ketamina

Por otro lado, después de la administración de ketamina, nuestros análisis reflejan un incremento de la potencia de la oscilación gamma bajo en el HPCd. Como se ha descrito en la discusión sobre los efectos de la ketamina, los incrementos de gamma suelen producirse de manera inmediata a la administración del fármaco. Cuando se producen a tiempos más prolongados podrían deberse a que la ketamina induce la expresión de receptores AMPA, lo que recluta

posteriormente neuronas GABAérgicas, y revierte en incrementos en la actividad gamma a tiempos posteriores (Cornwell et al., 2012). Además, como también se ha discutido previamente, en trabajos como el de Nugent et al. (2020) se han reportado incrementos en gamma a tiempos posteriores, 24 horas en su caso, y específicamente en pacientes con depresión que habían manifestado mejoras sintomatológicas tras la administración de ketamina.

Los cambios en el acoplamiento fase-amplitud podrían subyacer el restablecimiento de la comunicación entre el HPC y la vmPFC tras la administración de ketamina

Los resultados en cuanto a comodulación intraestructura son difíciles de interpretar. En ambas estructuras parecen indicar que los valores de comodulación son diferentes entre grupos, pero iguales a lo largo de las sesiones del experimento.

En el caso del acoplamiento intraestructura de vmPFC, no se observaría ningún cambio a lo largo del experimento y en el HPC solo en las frecuencias HFO (120-150 Hz) y siendo los cambios más destacables (una disminución), a nivel visual, a las 24 horas tras la administración de ketamina. En cierto modo, esta disminución parece confirmarse también, de manera visual, en los gráficos de violín de la **Figura E-V.3** del experimento V (factor día promediado), ya que, en todos los casos, a pesar de no ser significativo, las medias del grupo con ketamina son menores que las del grupo con salino. Pero ninguna de estas tendencias aparentes se confirma estadísticamente.

En cualquier caso, los resultados de información mutua y PLV apuntan hacia el hecho de que el tratamiento con corticosterona provocaría una alteración de la comunicación entre ambas estructuras especialmente en las oscilaciones lentas, que la ketamina restauraría. Por ello, y tras la falta de resultados interpretables en el acoplamiento fase-amplitud intraestructura, se decidió analizar si el acoplamiento de la amplitud de oscilaciones gamma de cada una de las estructuras cambiaba en función de la fase de la SW de la otra estructura.

En este caso, no se observó que la depresión alterara este parámetro, pero sí se vieron cambios al administrar ketamina. En concreto, observamos que cuando se analizaba el acoplamiento de las frecuencias gamma (concretamente gamma bajo) de HPCd a la fase de la SW de vmPFC, la administración de ketamina generaba aumentos significativos de este acoplamiento.

En general, es conocido que el acoplamiento fase-amplitud tiene un papel clave en la coordinación de redes neuronales (Canolty et al., 2006; Tort et al., 2009; Canolty & Knight, 2010), además los cambios en el acoplamiento han sido relacionados tanto como mejoras cognitivas (Ahnaou et al., 2017; Tamura et al., 2017), como con efectos negativos o la presencia de patologías (Won et al., 2018; T. H. Lee et al., 2020; A. A. Liu et al., 2022; W. Zhang et al., 2023). No se han encontrado muchos trabajos que muestren aumento de la comodulación tras la aplicación de tratamientos antidepresivos, pero parece que, el aumento de gamma de HPC y de su acoplamiento a la SW de vmPFC tras la administración de ketamina, podría implicar un restablecimiento de la conexión y control control de la vmPFC sobre el HPCd, lo que se traduciría en esta mejora cognitiva (R. S. Duman & Aghajanian, 2012). Además, sí que se ha demostrado la relación entre la SW de PFC y las frecuencias gamma de HPC en la generación de *ripples* hipocámpicas (Wierzynski et al., 2009; Abadchi et al., 2020; F. Jung & Carlén, 2021) y su incremento tras la realización de tareas de memoria (Axmacher et al., 2008; Eschenko et al., 2008; Mölle & Born, 2011).

Por lo tanto, aunque no parece que el estado depresivo vaya acompañado del deterioro de este parámetro, parece que la ketamina si pudiera generar un incremento, lo que podría traducirse

en mejora en algún aspecto cognitivo.

Como conclusión, es posible que el aumento de potencia del gamma bajo, así como del acoplamiento de la actividad gamma del HPCd a la vmPFC, puedan ser interpretados como biomarcadores de mejora cognitiva.

El tratamiento crónico con corticosterona provoca un descenso de la proporción de sueño de onda lenta que la ketamina repara

Por un lado, la inducción del estado depresivo aumentó el sueño REM, y dio lugar a la disminución del SWS (aunque de manera no significativa). Como se ha comentado previamente, los trastornos del sueño son uno de los síntomas más característicos que presentan las personas diagnosticadas con depresión (A. B. Medina et al., 2014). Algunos estudios sugieren que estas alteraciones a menudo preceden al inicio de la depresión, e incluso constituirían un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la enfermedad (Paunio et al., 2015). Empleando el modelo de administración crónica de corticosterona se han demostrado en múltiples trabajos cambios en la arquitectura del sueño de animales similares a los encontrados en el nuestro (Gregus et al., 2005; Dantec et al., 2014; Z. J. Wang et al., 2014; W. Wang et al., 2015; Cui et al., 2018; Nollet et al., 2019). Estos resultados también se han encontrado en los pacientes diagnosticados con depresión (Kupfer, 1995; Benca et al., 1997; Armitage et al., 2000; Argyropoulos & Wilson, 2005; Hein et al., 2019).

La explicación estos cambios en la arquitectura del sueño, en pacientes deprimidos, podría encontrarse en la actividad del eje HPA, que, como se habló en la introducción, parece estar desregulada en los pacientes deprimidos. De manera normal, al comenzar el periodo de sueño, la actividad del eje HPA se suprime, y durante la última parte del sueño, la actividad secretora del eje HPA vuelve a aumentar, aumentando la cantidad de sueño REM (Vgontzas et al., 2001), gracias a la liberación de CRH (Valentino & Foote, 1988) y la activación de las neuronas del LC (neuronas REM-on), y en el final del sueño (Weibel et al., 1995; Han et al., 2012). Como ya se ha explicado, los pacientes deprimidos suelen tener una actividad anormal del eje HPA, lo que implica niveles anormales de GRs y de ACTH durante el sueño (Linkowski et al., 1987; Steiger et al., 1989). Además, la administración de CRH en modelos animales también ha dado lugar a aumentos del sueño REM y un sueño más ligero en ratas (Ehlers et al., 1986) y ratones (L. D. Sanford et al., 2008; Kimura et al., 2009; Romanowski et al., 2010). Por ello es posible que la desregulación de la arquitectura del sueño en nuestro modelo de depresión -basado en de estrés crónico- se deba a los cambios descritos en el eje HPA.

Por otro lado, 24 horas después de la administración de ketamina, la proporción de SWS aumentó, mientras que la proporción de sueño REM disminuyó, y, en ambos casos, los cambios fueron significativos. En el grupo salino se observó cómo el descenso de SWS se consolidaba, y el sueño REM se mantuvo por encima de los niveles basales, aunque este aumento no llegó a ser significativo. Por lo tanto, la depresión provocaba un descenso progresivo de SW y aumento de REM el día 23 y la ketamina revierte el efecto.

Como se explicó en la discusión de la sección anterior, la eficacia de las terapias antidepresivas de tipo farmacológico en la arquitectura del sueño y el aumento del SWS también ha sido ampliamente demostrada, tanto cuando se trata de antidepresivos clásicos, como de nuevos, como la ketamina. Sin embargo, sobre los mecanismos mediante los cuales la administración de la ketamina podría regular el sueño se conoce menos. Aunque, como también se ha explicado, existirían diversas hipótesis que explicarían su acción.

Como último resultado obtenido, cabría explicar que el porcentaje de microdespertares experimentó un ligero aumento a los 21 días de comenzar el tratamiento de corticosterona en ambos grupos, sin embargo, este incremento no fue significativo. Es de destacar que el día 23 de registro, el en grupo que había recibido salino los microdespertares aumentaron enormemente, cosa que no ocurrió en el grupo que había recibido ketamina, lo que sugieren que la administración del fármaco habría bloqueado el aumento de esta variable.

La presencia de estos microdespertares es una medida indirecta de la continuidad del sueño, y también se han visto aumentados en pacientes con depresión (Riemann et al., 2001; M. Berger et al., 2003; Argyropoulos & Wilson, 2005), lo que indicaría una peor calidad del sueño. Dantec et al. (2014) describieron incrementos de esta medida en ratones que habían recibido el mismo tratamiento crónico con corticosterona que el que utilizamos nosotros en nuestros experimentos. Touma et al. (2009), también encontraron pruebas de una menor continuidad del sueño y una mayor fragmentación de este en ratones, sin embargo, este grupo lo hizo a través de medidas de locomoción y comportamientos exploratorios, los cuales aumentaron durante la fase diurna (o fase de reposo para los animales nocturnos) del ciclo luz/oscuridad.

Por lo tanto, estos resultados confirmarían la eficacia del tratamiento con corticosterona y de la administración de la dosis de 5 mg/Kg para revertir sus efectos.

Posibles biomarcadores del estado depresivo inducido por tratamiento crónico con corticosterona y de la mejora sintomatológica generada por la administración aguda de 5 mg/kg de ketamina

Una vez analizados y discutidos los cambios de este capítulo, podríamos concluir que la dosis de 5 mg/kg provocaría un efecto antidepresivo y ansiolítico, es decir, mejoraría el estado de los animales tras el tratamiento crónico con corticosterona. Y, al integrarlos con los obtenidos del análisis de los registros electrofisiológicos, podemos proponer biomarcadores del efecto de la depresión y del efecto antidepresivo/ansiolítico.

Con respecto al estado depresivo, los posibles biomarcadores serían: las disminuciones de oscilación lenta en vmPFC, así como la comunicación y la sincronización entre esta y el HPCd en el mismo rango de frecuencias; el aumento de la potencia theta y del PLV en esta banda podrían ser sustrato del componente ansioso. Además, los aumentos del sueño REM y de los microdespertares observados en los animales que no reciben ketamina también son reflejo de la patología depresiva.

Con respecto al efecto de la ketamina, su efecto antidepresivo va acompañado del restablecimiento (aumento) de los niveles de oscilación lenta y de la comunicación entre estructuras en estas frecuencias, bloqueo del aumento de los niveles de potencia de oscilaciones theta, así como del PLV en esta banda. Además, la administración de ketamina también mejora la estructura del sueño, incrementando la proporción de SWS. Además de esto, las disminuciones en el PLV de las frecuencias HFO, también podrían considerarse como marcadores del estado depresivo, sin embargo, en este caso, la ketamina no lograría una remisión de este parámetro.

Por otro lado, el incremento de la potencia gamma bajo en HPCd unido al aumento del acoplamiento de estas frecuencias en HPCd a las SW de vmPFC podrían interpretarse como posibles biomarcadores del efecto positivo de la ketamina, pero ninguna de estas variables se ha visto afectada por el desarrollo del estado depresivo.

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

A lo largo de esta Tesis Doctoral, hemos testado la hipótesis general de que la administración de ketamina inducirá conductas relacionadas con su potencial efecto antidepresivo, así como de tipo psicomimético, que dependerían de la dosis empleada y el sexo de los animales. Estos efectos se reflejarán en la actividad eléctrica del circuito hipocampo dorsal - corteza prefrontal ventromedial, así como en cambios a nivel de la expresión de moléculas relacionadas con plasticidad sináptica. Además, pensamos que la ketamina revertirá las conductas depresivas, así como los correlatos electrofisiológicos de éstas, en un modelo animal de depresión por estrés crónico.

En los apartados anteriores hemos comprobado experimentalmente y discutido estos resultados de manera independiente; en la presente discusión general, nos planteamos integrar los resultados acerca del efecto de la ketamina obtenidos en los experimentos de ambos bloques.

El efecto de la ketamina sobre la conducta: potencial efecto antidepresivo y efecto antidepresivo, e inducción de sintomatología psicótica de la dosis de 5 mg/kg

En la primera parte de la Tesis hemos estudiado los cambios comportamentales de tipo “antidepresivo” y psicomimético inducidos por dos dosis de ketamina, de rango distinto y en los dos sexos, así como las cascadas moleculares activadas por cada dosis. Además, también hemos analizado con detalle la actividad eléctrica generada por cada concentración. Todo ello nos permite correlacionar conducta, cambios a nivel de biología molecular y de actividad eléctrica y proponer perfil temporal de cada efecto deseado/indeseado de cada dosis con sus sustratos moleculares y electrofisiológicos.

Nuestro trabajo pone de manifiesto de manera completa y detallada las diferencias de los efectos a nivel conductual de dos dosis de rango diferentes de ketamina, mostrando como se puede valorar la relación efecto positivo/efecto indeseado, además de que algunos de estos efectos pueden ser diferentes entre sexos y confirma que conviene estudiar el factor sexo con detalle. Además, proponemos marcadores eléctricos específicos de efecto “antidepresivo”, psicótico y ansioso y su magnitud y duración en cada estructura.

En la segunda parte del trabajo hemos puesto a punto el modelo de depresión por administración crónica de corticosterona en hembras de ratón y hemos comprobado que la administración aguda de 5 mg/kg de ketamina revierte el estado depresivo y ansioso que se observa en estos animales. Además, hemos estudiado la actividad eléctrica de vmPFC y HPCd, así como la arquitectura del sueño en estos animales, consecuencia del tratamiento con corticosterona y tras la administración de la ketamina, de manera que podemos proponer marcadores del estado depresivo y de la mejora del mismo. Estos patrones eléctricos podrían ser propuestos como marcadores tanto para diagnóstico como para evaluar la eficacia de la terapia. Queremos destacar que este segundo estudio se ha realizado específicamente en hembras, circunstancia poco frecuente en la literatura científica.

También queremos enfatizar, además, que el estudio electrofisiológico de ambos bloques es muy completo, porque además de llevarse a cabo analizando de manera objetiva la dinámica temporal de los cambios, incluye un gran rango de medidas tanto dentro de las estructuras en estudio, como entre ellas.

El efecto de la ketamina sobre la actividad cerebral es diferente en animales con conductas de tipo depresivo que en animales “sin depresión”

Tal y como están diseñados los experimentos, los datos del día siguiente a la administración de ketamina en el experimento III son comparables con los obtenidos en el registro a las 24 horas del experimento V. Y esta comparación indica que la actividad cerebral evocada al administrar ketamina no es la misma en el cerebro de animales sin ninguna manipulación (experimento III) y la generada en aquel de animales en los que se ha provocado un estado depresivo (experimento V).

Solo detectamos como similares, cambios en las potencias de las frecuencias más altas: se observan aumentos de gamma en ambos experimentos. Pero estos cambios no son iguales; como consecuencia de la administración de ketamina en animales “no deprimidos” se observan aumentos de la potencia de la oscilación gamma alto en vmPFC; sin embargo, en animales que se han “recuperado” de un estado depresivo se observa este incremento de la potencia gamma, pero en el rango bajo y en HPCd.

Además, encontramos incluso cambios opuestos, como son aquellos sobre la potencia theta: la potencia de la oscilación theta bajo de HPCd, en animales “normales” aumenta a las 24 horas de la administración de ketamina. En cambio, en los animales “deprimidos” esta potencia podría experimentar el efecto contrario tras la administración de ketamina.

Por todo ello, nuestros resultados nos llevarían a secundar la hipótesis de que: no es lo mismo administrar ketamina a un cerebro “deprimido” que a uno “normal”, seguramente porque el estado basal ya no es el mismo.

Resultados acordes con esta hipótesis son los descritos por Nugent et al. (2019). Concretamente, estos autores vieron que los sujetos con depresión mayor que presentaban una potencia gamma inicial alta experimentaban un menor efecto antidepresivo de la ketamina. Por el contrario, aquellos pacientes que antes de la administración de la ketamina tenían niveles bajos de potencia gamma experimentaban un efecto antidepresivo más potente. Los autores del estudio demuestran, así, que el estado inicial con respecto a los niveles de oscilación gamma ya es diferente entre sujetos con depresión. Además, concluyeron que las diferencias entre grupos se podrían deber principalmente a la existencia de alteraciones en el equilibrio homeostático, es decir a que las condiciones iniciales con las que parte cada sujeto son diferentes. Según ellos, la existencia de un desequilibrio homeostático en pacientes condicionaría cómo es la respuesta a nivel conductual y también de actividad cerebral a la ketamina. Atendiendo a esto, cabe esperar que existan diferencias iniciales entre paciente de depresión y sujetos control en personas, y, por lo tanto, lo mismo en los modelos animales.

En concreto, la hipótesis del equilibrio homeostático fue propuesta por Duman & Aghajanian en 2012 y plantea que este equilibrio consiste en un funcionamiento estable de las redes neuronales, dependiente del mantenimiento del balance excitación/inhibición neuronal que, a su vez, sería dependiente de procesos de plasticidad (Turrigiano, 2008). Algunos estudios sobre los que los autores basan su teoría son los de K. S. Smith & Rudolph (2012), en el cual, ratones con un déficit en la subunidad $\gamma 2$ del receptor GABA mostraban una hipofunción de los receptores AMPA y NMDA. La disminución de la actividad de estos receptores generaba un desequilibrio neuronal, que se reflejaba en la manifestación de comportamientos de tipo depresivo. Ren et al. (2016) encontraron que una única administración de ketamina revertía este estado a través de cambios plásticos como son, por ejemplo: la expresión de proteínas relacionadas con los receptores AMPA y NMDA o un incremento de la sinapsis.

Otro estudio que apoya la teoría de que la ketamina actúa de manera diferente según el estado inicial del cerebro es el de C. S. Kim & Johnston (2020). En este estudio se observó que la expresión y funcionamiento de los receptores HNC (del inglés, *Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels*) en el HPCd era diferente según el estrés vivido por los animales previamente (C. S. Kim et al., 2017; C. S. Kim & Johnston, 2018), y que la respuesta al enantiómero (*S*) - ketamina también variaba si los animales habían pasado por un estrés crónico, agudo o no había pasado por ningún tipo de estrés. Ghosal et al. (2020), también encontraron cambios moleculares diferentes en HPC tras la administración de ketamina dependiendo de si los animales habían pasado por un proceso de estrés crónico o si simplemente recibían el fármaco sin haber pasado por los estresores.

Por lo tanto, solo podemos asumir que un cambio inducido por la ketamina sería indicativo de su efecto antidepresivo si lo evaluamos en animales sometidos a paradigmas de inducción de depresión. Si lo estudiamos en animales sin deprimir hay que tener la precaución de que quizá no correlacione con el verdadero efecto sino con su potencial antidepresivo.

La ketamina mejoraría la estructura del sueño independientemente del estado previo del cerebro

Los cambios más similares entre el experimento III y el V son los referentes al estudio sobre el sueño, ya que, tanto animales en los que se ha inducido un estado depresivo como en aquellos en los que no, se observa como efecto de la ketamina, un incremento del tiempo de sueño SWS y una disminución de la proporción de sueño REM. Como se ha descrito, estos cambios en el sueño pueden interpretarse como “mejoras” que podrían subyacer y explicar el efecto antidepresivo. Por lo tanto, se confirma esta actividad como marcador del estado posteriormente reparado por la ketamina.

Como hemos descrito previamente, se barajaban varias hipótesis que explicarían por qué la ketamina modificaba la estructura del sueño, entre las que se encuentran: cambios genéticos relacionados con los genes reloj, BDNF, modificaciones en la transmisión colinérgica del LC y su papel en el inicio del sueño REM o modificaciones en el propio ritmo circadiano.

Muchos estudios han reflejado cómo la ketamina modifica la estructura de la fase SWS (Feinberg & Campbell, 1993; I. G. Campbell & Feinberg, 1996; Ahnaou et al., 2017; Duncan et al., 2019) y en este papel se le ha otorgado mucha importancia a la proteína BDNF, existiendo una relación directa entre sus niveles y la proporción de SWS (Huber et al., 2007; Faraguna et al., 2008; Bachmann et al., 2012). Parece ser tal la importancia de esta proteína que, individuos con polimorfismo en genes relacionados con su expresión, mostrarían un fenotipo que reflejaría disfunciones en el SWS y una respuesta menor a la ketamina debido a la gran relación que tienen la ketamina y BDNF (Laje et al., 2012). Atendiendo a los resultados obtenidos en el experimento II, podría ser que esta proteína tenga algo que ver con el aumento del sueño SWS a las 24 horas, ya que como pudimos comprobar, a las 2 y a las 24 horas se encuentran aumentadas proteínas que serían activadas gracias a la acción de BDNF (Segal & Greenberg, 1996). Es decir, obtener resultados en proteínas como Akt, ERK y mTOR, unido a los incrementos de la potencia gamma iniciales indicarían, de manera indirecta, la presencia de niveles elevados (actuales o producidos anteriormente) de BDNF.

En concordancia con nuestros resultados, Duncan et al. (2013) ya demostraron que la respuesta antidepresiva de la ketamina se relaciona con una disminución de la vigilia, a la vez que un aumento de la SWS y el sueño REM al segundo día de la administración. Además, estos autores también observaron en otro estudio que la respuesta clínica de la ketamina parecía

predecirse tras el aumento de la ratio delta. Esta oscilación se encuentra disminuida en los pacientes con depresión mayor, (resultados similares a los nuestros en el experimento V) por lo que varios grupos de investigación (y ahora también nosotros) proponen que tanto el aumento de la potencia de la oscilación delta, como el del sueño SWS, sea fundamental para que se produzcan los efectos clínicos de la ketamina (Duncan & Zarate, 2013b; Ahnaou et al., 2017; Duncan et al., 2019; Kadriu et al., 2020).

A parte de los cambios en SWS, la ketamina también modificaría la fase REM (Gottschlich et al., 2011; Ahnaou et al., 2017). En nuestro caso, observamos en ambos experimentos una reducción de la fase REM y un aumento de la SWS, aunque los resultados de sueño REM, en concreto, no fueron significativos. A pesar de este hecho parece ser que los cambios en el sueño REM podrían estar explicados por el papel neuronas REM-on colinérgicas. Se ha visto que tanto la ketamina como el MK-801 disminuyen la neurotransmisión colinérgica en las estructuras de la formación reticular pontina (Lydic & Baghdoyan, 2002) siendo este tipo de neuronas y su actividad colinérgica, muy importantes para el inicio del sueño REM (Sakai, 1988; Datta & Siwek, 2002).

En conclusión, el estudio del sueño, se ratifica como un buen indicador del estado depresivo, así como del potencial antidepressivo y del efecto antidepressivo como tal, de la ketamina. Aún así, sigue siendo muy relevante el estudio de marcadores durante la vigilia dado que sería más trasladable a la práctica clínica y menos agresivo para pacientes, como los de depresión, en los que a veces es complicado el manejo en clínica (Nugent et al., 2017).

LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Nos gustaría finalizar este trabajo planteando algunas propuestas futuras con las que pensamos que sería adecuado complementarlo y continuarlo, y también haciendo una reflexión sobre algunas limitaciones en nuestros experimentos.

En primer lugar, creemos interesante realizar estudios sobre el efecto psicótico de la ketamina más allá de los 10 minutos, puesto que nuestros resultados sugieren que, sobre todo en machos, este efecto es de mayor duración.

Por otro lado, el NORT llevado a cabo en nuestro trabajo nos permite evaluar afectación a nivel sensorial, pero no memoria, que, como se ha ido describiendo a lo largo de la Tesis, es una de las funciones cognitivas cuya alteración permite detectar este test. Por lo tanto, encontramos adecuado repetirlo administrando a ketamina antes de la fase de entrenamiento, o entre fases, pero alargando el tiempo entre ellas.

Además, sería conveniente realizar todos los experimentos tanto en machos como en hembras, y profundizar, así, en el estudio de las posibles diferencias entre sexos del efecto psicótico y antidepressivo de la ketamina. En este sentido, y dado el ya explicado aparente efecto de los estrógenos en los efectos de la ketamina, sería apropiado poder controlar el ciclo estral de las hembras. Exploraríamos así, dimorfismos sexuales, tanto a nivel conductual como a nivel de marcadores eléctricos y moleculares de dichos efectos.

En relación a esto, nos gustaría estudiar la expresión de un espectro más amplio de moléculas. Aunque las cascadas moleculares de Akt y ERK están relacionadas con el incremento de BDNF, sería conveniente cuantificar esta molécula directamente. Realizar esta medición podría ayudar a confirmar que el incremento de ambas proteínas se debe a la activación del receptor TrkB y a su incremento. También sería interesante comprobar si a las 24 horas se han incrementado los receptores AMPA, para poder comprobar si los aumentos de gamma posteriores a la administración de ketamina (tras el tratamiento con corticosterona), implican de alguna manera, procesos de LTP. E incluso, realizar la cuantificación de las mismas moléculas en animales que hayan pasado por el tratamiento de corticosterona y a las 24 horas de la administración de ketamina. Esto nos permitiría explorar aún más si los cambios son iguales en el cerebro en función del estado previo.

En cuanto a los experimentos electrofisiológicos, ya se recalcó la importancia de la amígdala o incluso la habénula en la depresión durante la introducción. De este modo, obtener registros de estas estructuras permitiría obtener ampliar el conocimiento de las áreas ya estudiadas y la relación que tienen en la patología con la amígdala y la habénula. El estudio de la parte ventral del HPC, sobre todo debido a sus conexiones directas con la PFC y a la implicación de estas en el efecto antidepressivo de la ketamina, también podría aportar mucha más información y facilitar la búsqueda de biomarcadores. En cuanto al estudio del sueño, aunque en este trabajo demostramos como la administración de ketamina incrementa el sueño SWS incluso, tras el tratamiento crónico con corticosterona, aun se podrían haber medido otras variables. Por ejemplo, los procesos *SW-spindles-ripples* o la proporción de oscilaciones lentas/delta dentro de las ventanas de SW. Además, a parte de estudiar la estructura del sueño de manera global, podríamos haber analizado cómo es la actividad eléctrica (potencias, comodulación, comunicación) en los estados REM y SWS, tal y como hemos hecho con la vigilia.

También es importante recalcar que, aunque demostramos de manera conductual que el ais-

lamiento y el vehículo de utilizado en el tratamiento de corticosterona, no provocaban efectos similares a los de la depresión, sería importante también, el estudio de la actividad electrofisiológica también en un grupo que únicamente reciba el vehículo. Esto nos permitiría acabar de confirmar que las variables estudiadas en estos animales solo cambian por el efecto de la corticosterona y la ketamina.

Por último, sería interesante estudiar qué ocurre con el potencial antidepresivo de las dosis de 5 mg y 30 mg/kg entre las 24 horas y la semana tras la administración. Además, nuestro trabajo se podría complementar con la utilización de otras técnicas conductuales, como puede ser la realización del test de interacción social para medir la psicosis. En el apartado electrofisiológico, se podrían complementar los resultados obtenidos con otros cálculos como es la causalidad de *Granger*, que nos permitiría definir exactamente en qué dirección se observa el flujo de información y en qué frecuencia, o la realización de la comodulación entre estructuras en el experimento III, para comprobar si se obtienen los mismos patrones entre la SW de la vmPFC y el gamma de HPCd a las 24 horas de la administración de ketamina. Esto permitiría profundizar los cambios de comunicación existentes entre vmPFC y HPCd.

Teniendo todo esto en cuenta también hay que destacar que nuestro trabajo abre las puertas a una mayor comprensión sobre el efecto antidepresivo de la ketamina. En primer lugar, el principal punto fuerte del estudio es que combina los aspectos moleculares, conductuales y electrofisiológicos tras el uso del fármaco. Además, estudiamos efecto antidepresivo, pero también efecto nocivo (psicótico) de la ketamina, lo que nos permite proponer la dosis de mejor relación efectos beneficiosos/efectos perjudiciales.

El estudio también aportaría más información sobre como funciona el circuito formado entre la vmPFC y el HPCd, tanto en la depresión como en su recuperación tras el uso de antidepresivos. Además, información sobre la relevancia de la parte dorsal del HPC; la mayoría de estudios que tratan sobre patologías del estado de ánimo se centran en la parte ventral.

Por último, también ayuda a la comprensión de cómo funcionan los fármacos en hembras. Ya se mencionó en el apartado de introducción como el estudio de los trastornos mentales tiende a sesgarse y utilizar únicamente machos debido a la menos variabilidad que suelen presentar.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta Tesis nos permiten concluir que:

- I. La ketamina produce efectos psicóticos inmediatos a las dos dosis estudiadas, 5 y 30 mg/kg. Estos son de mayor magnitud y duración en el tiempo al administrar la dosis superior. A las dos horas no se observa ningún efecto de esta naturaleza para ninguna dosis ni en ningún sexo.
- II. Ambas dosis de ketamina muestran el mismo potencial antidepressivo: un efecto rápido, a las 2 horas de su administración, que perdura hasta las 24 horas, pero no hasta los 7 días.
- III. La dosis de 5 mg/kg parece ofrecer una mejor relación efecto beneficioso/efecto indeseado, dado que a igual potencial antidepressivo induce estados psicomiméticos más leves que la de 30 mg/kg.
- IV. Los efectos psicóticos de la ketamina parecen sexualmente dimórficos, siendo los machos más sensibles, especialmente cuando se administra la dosis alta. El perfil de respuesta de tipo “antidepressivo” es el mismo entre sexos para ambas dosis estudiadas.
- V. La ketamina aumentaría en el hipocampo y corteza ventromedial los niveles de proteínas como Akt, ERK y mTOR. Todas estas proteínas estarían implicadas en procesos de plasticidad neuronal.
- VI. La ketamina induce una actividad eléctrica en HPCd y vmPFC de duración particular según la dosis y el área estudiada en machos de ratón: la dosis de 5 mg/kg solo durante los 10 primeros minutos, la de 30 mg/kg hasta los 150 minutos en HPCd, y hasta los 70 en vmPFC.
- VII. La actividad eléctrica registrada durante los 10 primeros minutos presenta elementos comunes independientemente de la dosis administrada: se producen incrementos de la potencia de la oscilación gamma en ambas estructuras y un cambio en el balance excitación/inhibición. Además, aumenta la potencia de la banda theta en HPCd, así como del acoplamiento de fase entre estructuras en estas frecuencias. Por último, también se detectan aumentos del acoplamiento fase-amplitud en ambas estructuras.
- VIII. Durante los 10 primeros minutos algunos efectos se observan de manera particular según la dosis administrada: la concentración de 5 mg/kg provoca una disminución de la potencia de las oscilaciones lentas y beta, y de la información mutua general y en SW. La de 30 mg/kg da lugar a reducciones de la información mutua en todos los rangos de frecuencia estudiadas. Además, la dosis alta provoca un aumento del acoplamiento de fase en un mayor rango de frecuencias, a diferencia de la de 5 mg/kg. De la misma manera, la dosis alta, generó en ambas estructuras aumentos del acoplamiento fase amplitud, mientras que la baja solamente lo hizo en HPCd.
- IX. A partir de los 10 minutos, y solamente como consecuencia de la administración de la dosis alta se observan incrementos en frecuencias de gamma medio, en el HPCd; y altas, en ambas estructuras. También se observa la sincronización en fase entre ambas estructuras en la oscilación gamma medio y la disminución en este mismo parámetro en beta.
- X. Algunos de los cambios observados a nivel de la actividad eléctrica pueden constituir

sustrato funcional (biomarcadores) del estado psicótico observado en el experimento I. Concretamente estos serían los incrementos inmediatos de potencia y sincronía de fase en frecuencias gamma y también las disminuciones en la comunicación entre ambas estructuras. Todos estos cambios se producirían principalmente durante los 10 minutos posteriores a la administración.

- XI.** Los incrementos en oscilaciones theta bajo, unidos al cambio en la frecuencia dominante hacia este rango, y los incrementos en acoplamientos entre estructuras en la fase de estas frecuencias podían reflejar un estado de ansiedad producido por los efectos psicomiméticos iniciales.
- XII.** 2 horas después de la administración de ketamina, y únicamente tras la administración de la dosis de 30 mg/kg, se observan incrementos en la información mutua general y las frecuencias beta entre el HPCd y vmPFC. Además, en este mismo parámetro se encuentran disminuciones en la frecuencia theta bajo. Ambos efectos podrían estar relacionados con el efecto antidepresivo existente en este momento. También podría ser predictor de este efecto beneficioso el propio gamma aberrante observado inmediatamente a la administración, e incluso el gamma medio y alto obtenido a partir de los 10 primeros minutos.
- XIII.** Ambas dosis de ketamina aumentarían el SWS 24 horas después de su administración. Esta actividad, unida a las anteriores, podría ser considerada marcador del efecto antidepresivo.
- XIV.** La administración crónica (21 días) de corticosterona (35 μ g/ml al día) da lugar a la expresión de conductas de tipo depresivo y ansioso en hembras de ratón.
- XV.** El desarrollo de este estado depresivo por administración crónica de corticosterona va acompañado de una actividad cerebral concreta: una disminución de la potencia, el PLV y la información mutua en la SW. Estos cambios serían reflejo de una hiperactivación de la vmPFC y una disminución de la comunicación con el HPCd.
- XVI.** El desarrollo de un estado depresivo por administración crónica de corticosterona se relaciona con una reducción del SWS y un aumento no significativo del REM.
- XVII.** La administración aguda 5 mg/kg de ketamina revierte a nivel conductual el estado depresivo y ansioso producido por el tratamiento crónico de corticosterona.
- XVIII.** La administración aguda 5 mg/kg de ketamina revierten algunos de los efectos a nivel electrofisiológico generados por el tratamiento crónico de corticosterona. Concretamente a las 24 horas de su administración, restauraría los efectos producidos por la corticosterona en la SW y aumentaría el acoplamiento entre la SW de vmPFC y el gamma de HPCd. Además, la ketamina aumentaría la cantidad de sueño SWS a las 24 horas de su administración. Estas actividades serían, por tanto, marcadores del estado depresivo y, también del efecto antidepresivo de esta dosis de ketamina en nuestro modelo.
- XIX.** Además, el estado depresivo se asocia a una disminución de acoplamiento de fase de la oscilación HFO entre la vmPFC y el HPCd, cambio que quizá podría ser interpretado como marcador de la patología, pero la ketamina no lo revierte.
- XX.** A su vez, la ketamina produce a las 24 horas un incremento del acoplamiento fase-amplitud entre la SW de vmPFC y el gamma bajo de HPCd, cambio que puede ser interpretado como indicador de mejora cognitiva, pero sin que antes se haya alterado este parámetro en el modelo de depresión.

XXI. Los efectos de la ketamina dependen del estado previo del cerebro. No es lo mismo administrar ketamina a animales sin patologías que a animales que muestran comportamientos de tipo depresivo.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

- Abad, V. C., & Guilleminault, C. (2005). Sleep and psychiatry. *Dialogues in clinical neuroscience*, 7, 291-303. doi: 10.31887/DCNS.2005.7.4/VABAD.
- Abadchi, J. K., Nazari-Ahangarkolae, M., Gattas, S., Bermudez-Contreras, E., Luczak, A., McNaughton, B. L., & Mohajerani, M. H. (2020). Spatiotemporal patterns of neocortical activity around hippocampal sharp-wave ripples. *eLife*, 9. doi: 10.7554/ELIFE.51972.
- Abdallah, C. G., Averill, L. A., Gueorguieva, R., Goktas, S., Purohit, P., Ranganathan, M., Sherif, M., Ahn, K. H., D'Souza, D. C., Formica, R., Southwick, S. M., Duman, R. S., Sanacora, G., & Krystal, J. H. (2020). Modulation of the antidepressant effects of ketamine by the mTORC1 inhibitor rapamycin. *Neuropsychopharmacology* 2020 45:6, 45, 990-997. doi: 10.1038/s41386-020-0644-9.
- Accolla, E. A., Aust, S., Merkl, A., Schneider, G. H., Kühn, A. A., Bajbouj, M., & Draganski, B. (2016). Deep brain stimulation of the posterior gyrus rectus region for treatment resistant depression. *Journal of affective disorders*, 194, 33-37. doi: 10.1016/J.JAD.2016.01.022.
- Acevedo, J., Mugarura, N. E., Welter, A. L., Johnson, E. M., & Siegel, J. A. (2023). The Effects of Acute and Repeated Administration of Ketamine on Memory, Behavior, and Plasma Corticosterone Levels in Female Mice. *Neuroscience*, 512, 99-109. doi: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2022.12.002.
- Adams, J., Castagnoli, N., & Trevor, A. (1978). Quantitative analysis of ketamine enantiomers. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 21, 471-2.
- Adell, A. (2020). Brain NMDA Receptors in Schizophrenia and Depression. *Biomolecules*, 10, 947. doi: 10.3390/BIOM10060947.
- Adell, A., & Artigas, F. (1991). Differential effects of clomipramine given locally or systemically on extracellular 5-hydroxytryptamine in raphe nuclei and frontal cortex - An in vivo brain microdialysis study. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 343, 237-244. doi: 10.1007/BF00251121/METRICS.
- Adell, A., Celada, P., Abellán, M. T., & Artigas, F. (2002). Origin and functional role of the extracellular serotonin in the midbrain raphe nuclei. *Brain Research Reviews*, 39, 154-180. doi: 10.1016/S0165-0173(02)00182-0.
- Adell, A., Celada, P., & Artigas, F. (2001). The role of 5-HT1B receptors in the regulation of serotonin cell firing and release in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 79, 172-182. doi: 10.1046/J.1471-4159.2001.00550.X.
- Adey, W. R., Dunlop, C. W., & Hendrix, C. E. (1960). Hippocampal Slow Waves: Distribution and Phase Relationships in the Course of Approach Learning. *Archives of Neurology*, 3, 74-90. doi: 10.1001/ARCHNEUR.1960.00450010074007.
- Adhikari, A., Topiwala, M. A., & Gordon, J. A. (2010). Synchronized Activity between the Ventral Hippocampus and the Medial Prefrontal Cortex during Anxiety. *Neuron*, 65, 257-269. doi: 10.1016/j.neuron.2009.12.002.
- Adhikari, A., Topiwala, M. A., & Gordon, J. A. (2011). Single units in the medial prefrontal cortex with anxiety-related firing patterns are preferentially influenced by ventral hippocampal activity. *Neuron*, 71, 898-910. doi: 10.1016/j.neuron.2011.07.027.
- Adrien, J. (2002). Neurobiological bases for the relation between sleep and depression. *Sleep Medicine Reviews*, 6, 341-351. doi: 10.1053/SMRV.2001.0200.
- Aerts, T., & Seuntjens, E. (2021). Novel Perspectives on the Development of the Amygdala in Rodents. *Frontiers in Neuroanatomy*, 15, 786679. doi: 10.3389/FNANA.2021.786679.
- Ahima, R., & Harlan, R. E. (1990). Charting of Type II glucocorticoid receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 39, 579-604. doi: 10.1016/0306-4522(90)90244-X.
- Ahima, R., Krozowski, Z., & Harlan, R. E. (1991). Type I corticosteroid receptor-like immunoreactivity in the rat CNS: Distribution and regulation by corticosteroids. *Journal of Comparative Neurology*, 313, 522-538. doi: 10.1002/CNE.903130312.
- Ahnaou, A., Huysmans, H., Biermans, R., Manyakov, N. V., & Drinkenburg, W. H. (2017). Ketamine: differential neurophysiological dynamics in functional networks in the rat brain. *Translational Psychiatry*, 7, e1237-e1237. doi: 10.1038/tp.2017.198.
- Ainge, J. A., Heron-Maxwell, C., Theofilas, P., Wright, P., Hoz, L. D., & Wood, E. R. (2006). The role of the hippocampus in object recognition in rats: examination of the influence of task parameters and lesion size. *Behavioural brain research*, 167, 183-195. doi: 10.1016/J.BBR.2005.09.005.
- Akam, T. E., & Kullmann, D. M. (2012). Efficient "Communication through Coherence" Requires Oscillations Structured to Minimize Interference between Signals. *PLOS Computational Biology*, 8, e1002760. doi: 10.1371/JOURNAL.PCBI.1002760.
- Akeju, O., Song, A. H., Hamilos, A. E., Pavone, K. J., Flores, F. J., Brown, E. N., & Purdon, P. L. (2016). Electroencephalogram signatures of ketamine anesthesia-induced unconsciousness. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 127, 2414-2422. doi: 10.1016/J.CLINPH.2016.03.005.
- Akhmetshina, D., Zakharov, A., Vinokurova, D., Nasretidinov, A., Valeeva, G., & Khazipov, R. (2016). The serotonin reuptake inhibitor citalopram suppresses activity in the neonatal rat barrel cortex in vivo. *Brain Research Bulletin*, 124, 48-54. doi: 10.1016/J.BRAINRESBULL.2016.03.011.
- Akinfiresoye, L., & Tizabi, Y. (2013). Antidepressant effects of AMPA and ketamine combination: Role of hippocampal BDNF, synapsin, and mTOR. *Psychopharmacology*, 230, 291-298. doi: 10.1007/S00213-013-3153-2/METRICS.
- Akkerman, S., Blokland, A., Reneerkens, O., van Goethem, N. P., Bollen, E., Gijssels, H. J., Lieben, C. K., Steinbusch, H. W., & Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: Methodological considerations on exploration and discrimination measures. *Behavioural Brain Research*, 232, 335-347. doi: 10.1016/J.BBR.2012.03.022.
- Alario, A. A., & Niciu, M. J. (2021). Biomarkers of ketamine's antidepressant effect: a clinical review of ge-

- netics, functional connectivity, and neurophysiology. *Chronic Stress*, 5. DOI: [10.1177/24705470211014210](https://doi.org/10.1177/24705470211014210).
- Alheid, G. F. (2003). Extended Amygdala and Basal Forebrain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 985, 185-205. DOI: [10.1111/J.1749-6632.2003.TB07082.X](https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2003.TB07082.X).
- Alnefeesi, Y., Chen-Li, D., Krane, E., Jawad, M. Y., Rodrigues, N. B., Ceban, F., Vincenzo, J. D. D., Meshkat, S., Ho, R. C., Gill, H., Teopiz, K. M., Cao, B., Lee, Y., McIntyre, R. S., & Rosenblatt, J. D. (2022). Real-world effectiveness of ketamine in treatment-resistant depression: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychiatric Research*, 151, 693-709. DOI: [10.1016/J.JPSYCHIRES.2022.04.037](https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHIRES.2022.04.037).
- Alvarez, F. P., & Destexhe, A. (2004). Simulating cortical network activity states constrained by intracellular recordings. *Neurocomputing*, 58-60, 285-290. DOI: [10.1016/J.NEUCOM.2004.01.057](https://doi.org/10.1016/J.NEUCOM.2004.01.057).
- Amat-Foraster, M., Jensen, A. A., Plath, N., Herrik, K. F., Celada, P., & Artigas, F. (2018). Temporally dissociable effects of ketamine on neuronal discharge and gamma oscillations in rat thalamo-cortical networks. *Neuropharmacology*, 137, 13-23. DOI: [10.1016/J.NEUROPHARM.2018.04.022](https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2018.04.022).
- Anaclet, C., & Fuller, P. M. (2017). Brainstem regulation of slow-wave-sleep [Neurobiology of Sleep]. *Current Opinion in Neurobiology*, 44, 139-143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.04.004>.
- Anderson, P. M., Pinault, D., O'Brien, T. J., & Jones, N. C. (2014). Chronic administration of antipsychotics attenuates ongoing and ketamine-induced increases in cortical oscillations. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17, 1895-1904. DOI: [10.1017/S1461145714000959](https://doi.org/10.1017/S1461145714000959).
- Andri, S. (2022). *DescTools: Tools for Descriptive Statistics* [R package version 0.99.47].
- Annafi, O. S., Aluko, O. M., Eduviere, A. T., Omorogbe, O., & Umukoro, S. (2017). Probable mechanisms involved in the antipsychotic-like activity of methyl jasmonate in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 390, 883-892. DOI: [10.1007/S00210-017-1386-Z/METRICS](https://doi.org/10.1007/S00210-017-1386-Z/METRICS).
- Antony, J. W., Schönauer, M., Staresina, B. P., & Cairney, S. A. (2019). Sleep Spindles and Memory Re-processing. *Trends in Neurosciences*, 42, 1-3. DOI: [10.1016/j.tins.2018.09.012](https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.09.012).
- Antunes, M., & Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive Processing*, 13, 93-110. DOI: [10.1007/S10339-011-0430-Z](https://doi.org/10.1007/S10339-011-0430-Z).
- Anver, H., Ward, P. D., Magony, A., & Vreugdenhil, M. (2010). NMDA Receptor Hypofunction Phase Couples Independent γ -Oscillations in the Rat Visual Cortex. *Neuropsychopharmacology* 2011 36:2, 36, 519-528. DOI: [10.1038/npp.2010.183](https://doi.org/10.1038/npp.2010.183).
- APA. (2014). *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales DSM-5®* (E. médica panamericana, Ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Araneda, R., & Andrade, R. (1991). 5-Hydroxytryptamine₂ and 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors mediate opposing responses on membrane excitability in rat association cortex. *Neuroscience*, 40, 399-412. DOI: [10.1016/0306-4522\(91\)90128-B](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90128-B).
- Argyropoulos, S. V., & Wilson, S. J. (2005). Sleep disturbances in depression and the effects of antidepressants. *International review of psychiatry*, 17, 237-245. DOI: [10.1080/09540260500104458](https://doi.org/10.1080/09540260500104458).
- Arias-de la Torre, J., Vilagut, G., Ronaldson, A., Serrano-Blanco, A., Martín, V., Peters, M., Valderas, J. M., Dregan, A., & Alonso, J. (2021). Prevalence and variability of current depressive disorder in 27 European countries: a population-based study. *The Lancet. Public health*, 6, e729-e738. DOI: [10.1016/S2468-2667\(21\)00047-5](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00047-5).
- Armitage, R., Hoffmann, R., Trivedi, M., & Rush, A. J. (2000). Slow-wave activity in NREM sleep: sex and age effects in depressed outpatients and healthy controls. *Psychiatry research*, 95, 201-213. DOI: [10.1016/S0165-1781\(00\)00178-5](https://doi.org/10.1016/S0165-1781(00)00178-5).
- Arsenault-Lapierre, G., Kim, C., & Turecki, G. (2004). Psychiatric diagnoses in 3275 suicides: a meta-analysis. *BMC psychiatry*, 4. DOI: [10.1186/1471-244X-4-37](https://doi.org/10.1186/1471-244X-4-37).
- Artigas, F. (2013). Serotonin receptors involved in antidepressant effects. *Pharmacology & therapeutics*, 137, 119-131. DOI: [10.1016/J.PHARMTHERA.2012.09.006](https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2012.09.006).
- Artigas, F., Romero, L., Montigny, C. D., & Blier, P. (1996). Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT_{1A} antagonists. *Trends in Neurosciences*, 19, 378-383. DOI: [10.1016/S0166-2236\(96\)10037-0](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(96)10037-0).
- Asadi, A., Asl, M. M., Vahabie, A. H., & Valizadeh, A. (2022). The Origin of Abnormal Beta Oscillations in the Parkinsonian Corticobasal Ganglia Circuits. *Parkinson's Disease*, 2022, 7524066. DOI: [10.1155/2022/7524066](https://doi.org/10.1155/2022/7524066).
- Ashby, C. R., Edwards, E., & Wang, R. Y. (1994). Electrophysiological evidence for a functional interaction between 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in the rat medial prefrontal cortex: An iontophoretic study. *Synapse*, 17, 173-181. DOI: [10.1002/SYN.890170306](https://doi.org/10.1002/SYN.890170306).
- Atallah, B. V., & Scanziani, M. (2009). Instantaneous modulation of gamma oscillation frequency by balancing excitation with inhibition. *Neuron*, 62, 566-577. DOI: [10.1016/J.NEURON.2009.04.027](https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2009.04.027).
- Autry, A. E., Adachi, M., Nosyreva, E., Na, E. S., Los, M. F., Cheng, P. F., Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2011). NMDA receptor blockade at rest triggers rapid behavioural antidepressant responses. *Nature*, 475, 91-95. DOI: [10.1038/nature10130](https://doi.org/10.1038/nature10130).
- Axmacher, N., Elger, C. E., & Fell, J. (2008). Ripples in the medial temporal lobe are relevant for human memory consolidation. *Brain*, 131, 1806-1817. DOI: [10.1093/BRAIN/AWN103](https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWN103).
- Bachmann, V., Klein, C., Bodenmann, S., Schäfer, N., Berger, W., Brugger, P., & Landolt, H. P. (2012). The BDNF Val66Met Polymorphism Modulates Sleep Intensity: EEG Frequency- and State-Specificity. *Sleep*, 35, 335-344. DOI: [10.5665/SLEEP.1690](https://doi.org/10.5665/SLEEP.1690).
- Bailey, N. W., Hoy, K. E., Rogasch, N. C., Thomson, R. H., McQueen, S., Elliot, D., Sullivan, C. M., Fulcher, B. D., Daskalakis, Z. J., & Fitzgerald, P. B. (2019). Differentiating responders and non-responders to

- rTMS treatment for depression after one week using resting EEG connectivity measures. *Journal of Affective Disorders*, 242, 68-79. DOI: 10.1016/J.JAD.2018.08.058.
- Baltaci, S. B., Mogulkoc, R., & Baltaci, A. K. (2018). Molecular Mechanisms of Early and Late LTP. *Neurochemical Research*, 44, 281-296. DOI: 10.1007/S11064-018-2695-4.
- Barker, G. R., Bird, F., Alexander, V., & Warburton, E. C. (2007). Recognition Memory for Objects, Place, and Temporal Order: A Disconnection Analysis of the Role of the Medial Prefrontal Cortex and Perirhinal Cortex. *Journal of Neuroscience*, 27, 2948-2957. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5289-06.2007.
- Bartos, M., Vida, I., & Jonas, P. (2007). Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nature Reviews Neuroscience*, 8, 45-56. DOI: 10.1038/nrn2044.
- Başar, E., Başar-Eroglu, C., Karakaş, S., & Schürmann, M. (2000). Brain oscillations in perception and memory. *International Journal of Psychophysiology*, 35, 95-124. DOI: 10.1016/S0167-8760(99)00047-1.
- Başar, E., Gönner, A., Özemesi, C., & Urgan, P. (1975). Dynamics of brain rhythmic and evoked potentials - II. Studies in the auditory pathway, reticular formation and hippocampus during the waking stage. *Biological Cybernetics*, 20, 145-160. DOI: 10.1007/BF00342635/METRICS.
- Başar, E., & Özemesi, C. (1972). The hippocampal EEG-activity and a systems analytical interpretation of averaged evoked potentials of the brain. *Kybernetik*, 12, 45-54. DOI: 10.1007/BF00289236/METRICS.
- Başar, E., & Güntekin, B. (2008). A review of brain oscillations in cognitive disorders and the role of neurotransmitters. *Brain Research*, 1235, 172-193. DOI: 10.1016/J.BRAINRES.2008.06.103.
- Başar, E., & Güntekin, B. (2013). Review of delta, theta, alpha, beta, and gamma response oscillations in neuropsychiatric disorders. *Supplements to Clinical Neurophysiology*, 62, 303-341. DOI: 10.1016/B978-0-7020-5307-8.00019-3.
- Bates, A. T., Kiehl, K. A., Laurens, K. R., & Liddle, P. F. (2009). Low-frequency EEG oscillations associated with information processing in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 115, 222-230. DOI: 10.1016/J.SCHRES.2009.09.036.
- Bauer, M., Oostenveld, R., Peeters, M., & Fries, P. (2006). Tactile spatial attention enhances gamma-band activity in somatosensory cortex and reduces low-frequency activity in parieto-occipital areas. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26, 490-501. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5228-04.2006.
- Baxendale, S. A., Thompson, P. J., & Duncan, J. S. (2005). Epilepsy and depression: The effects of comorbidity on hippocampal volume - A pilot study. *Seizure*, 14, 435-438. DOI: 10.1016/j.seizure.2005.07.003.
- Bearden, C. E., Thompson, P. M., Avedissian, C., Klunder, A. D., Nicoletti, M., Dierschke, N., Brambilla, P., & Soares, J. C. (2009). Altered hippocampal morphology in unmedicated patients with major depressive illness. *ASN Neuro*, 1, 265-273. DOI: 10.1042/AN20090026.
- Beck, K., Hindley, G., Borgan, F., Ginestet, C., McCutcheon, R., Brugger, S., Driesen, N., Ranganathan, M., D'Souza, D. C., Taylor, M., Krystal, J. H., & Howes, O. D. (2020). Association of Ketamine With Psychiatric Symptoms and Implications for Its Therapeutic Use and for Understanding Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open*, 3, e204693-e204693. DOI: 10.1001/JAMANETWORKOPEN.2020.4693.
- Becker, A., Grecksch, G., & Schröder, H. (2006). Pain sensitivity is altered in animals after subchronic ketamine treatment. *Psychopharmacology*, 189, 237-247. DOI: 10.1007/S00213-006-0557-2.
- Beery, A. K., & Zucker, I. (2011). Sex Bias in Neuroscience and Biomedical Research. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 35, 565. DOI: 10.1016/J.NEUBIOREV.2010.07.002.
- Beesdo, K., Pine, D. S., Lieb, R., & Wittchen, H. U. (2010). Incidence and Risk Patterns of Anxiety and Depressive Disorders and Categorization of Generalized Anxiety Disorder. *Archives of General Psychiatry*, 67, 47-57. DOI: 10.1001/ARCHGENPSYCHIATRY.2009.177.
- Bel, N., & Artigas, F. (1993). Chronic treatment with fluvoxamine increases extracellular serotonin in frontal cortex but not in raphe nuclei. *Synapse*, 15, 243-245. DOI: 10.1002/SYN.890150310.
- Bell, A. J., & Sejnowski, T. J. (1995). An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural computation*, 7, 1129-1159. DOI: 10.1162/NECO.1995.7.6.1129.
- Bell, C., Wilson, S., Rich, A., Bailey, J., & Nutt, D. (2003). Effects on sleep architecture of pindolol, paroxetine and their combination in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 166, 102-110. DOI: 10.1007/S00213-002-1314-9.
- Bellet, M. M., Vawter, M. P., Bunney, B. G., Bunney, W. E., & Sassone-Corsi, P. (2011). Ketamine Influences CLOCK:BMAL1 Function Leading to Altered Circadian Gene Expression. *PLoS ONE*, 6, e23982. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0023982.
- Benarroch, E. E. (2015). The amygdala. *Neurology*, 84, 313-324. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001171.
- Benca, R. M., Obermeyer, W. H., Thisted, R. A., & Gillin, J. C. (1992). Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Archives of general psychiatry*, 49, 651-668. DOI: 10.1001/ARCHPSYC.1992.01820080059010.
- Benca, R. M., Okawa, M., Uchiyama, M., Ozaki, S., Nakajima, T., Shibui, K., & Obermeyer, W. H. (1997). Sleep and mood disorders. *Sleep Medicine Reviews*, 1, 45-56. DOI: 10.1016/S1087-0792(97)90005-8.
- Benchenane, K., Tiesinga, P. H., & Battaglia, F. P. (2011). Oscillations in the prefrontal cortex: a gateway to memory and attention. *Current Opinion in Neurobiology*, 21, 475-485. DOI: 10.1016/J.CONB.2011.01.004.
- Benedetti, F., & Colombo, C. (2011). Sleep Deprivation in Mood Disorders. *Neuropsychobiology*, 64, 141-151. DOI: 10.1159/000328947.
- Berger, M., Calkers, D. V., & Riemann, D. (2003). Sleep and manipulations of the sleep-wake rhythm in depression. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 108, 83-91. DOI: 10.1034/J.1600-0447.108.S418.17.X.

- Berger, S., Gureczny, S., Reisinger, S. N., Horvath, O., & Pollak, D. D. (2019). Effect of Chronic Corticosterone Treatment on Depression-Like Behavior and Sociability in Female and Male C57BL/6N Mice. *Cells* 2019, Vol. 8, Page 1018, 8, 1018. doi: 10.3390/CELLS8091018.
- Bergfeld, I. O., Mantione, M., Figuee, M., Schuurman, P. R., Lok, A., & Denys, D. (2018). Treatment-resistant depression and suicidality. *Journal of Affective Disorders*, 235, 362-367. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.04.016>.
- Berman, R. M., Cappiello, A., Anand, A., Oren, D. A., Heninger, G. R., Charney, D. S., & Krystal, J. H. (2000). Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biological Psychiatry*, 47, 351-354. doi: 10.1016/S0006-3223(99)00230-9.
- Berry, R. B. (2012). Polysomnography, Portable Monitoring, and Actigraphy. *Fundamentals of Sleep Medicine*, 189-218. doi: 10.1016/B978-1-4377-0326-9.00013-0.
- Best, P. J., White, A. M., & Minai, A. (2003). Spatial Processing in the Brain: The Activity of Hippocampal Place Cells. *Annual review of neuroscience*, 24, 459-486. doi: 10.1146/ANNUREV.NEURO.24.1.459.
- Bétry, C., Pehrson, A. L., Etiévant, A., Ebert, B., Sánchez, C., & Haddjeri, N. (2013). The rapid recovery of 5-HT cell firing induced by the antidepressant vortioxetine involves 5-HT₃ receptor antagonism. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 16, 1115-1127. doi: 10.1017/S1461145712001058.
- Bevins, R. A., & Besheer, J. (2006). Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nature Protocols*, 1, 1306-1311. doi: 10.1038/nprot.2006.205.
- Bhagwagar, Z., Rabiner, E. A., Sargent, P. A., Grasby, P. M., & Cowen, P. J. (2004). Persistent reduction in brain serotonin_{1A} receptor binding in recovered depressed men measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635. *Molecular Psychiatry*, 9, 386-392. doi: 10.1038/sj.mp.4001401.
- Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 69, 89-95. doi: 10.1067/MCP.2001.113989.
- Birnbaumer, L., Campbell, K. P., Catterall, W. A., Harpold, M. M., Hofmann, F., Horne, W. A., Mori, Y., Schwartz, A., Snutch, T. P., Tanabe, T., & Tsien, R. W. (1994). The naming of voltage-gated calcium channels. *Neuron*, 13, 505-506. doi: 10.1016/0896-6273(94)90021-3.
- Björkholm, C., & Monteggia, L. M. (2016). BDNF - a key transducer of antidepressant effects. *Neuropharmacology*, 102, 72-79. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2015.10.034.
- Black, P. H. (2003). The inflammatory response is an integral part of the stress response: Implications for atherosclerosis, insulin resistance, type II diabetes and metabolic syndrome X. *Brain, Behavior, and Immunity*, 17, 350-364. doi: 10.1016/S0889-1591(03)00048-5.
- Blasco-Serra, A., González-Soler, E. M., Cervera-Ferri, A., Teruel-Martí, V., & Valverde-Navarro, A. A. (2017). A standardization of the Novelty-Suppressed Feeding Test protocol in rats. *Neuroscience letters*, 658, 73-78. doi: 10.1016/J.NEULET.2017.08.019.
- Blier, P., & de Montigny, C. (1994). Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends in Pharmacological Sciences*, 15, 220-226. doi: 10.1016/0165-6147(94)90315-8.
- Boldrini, M., Santiago, A. N., Hen, R., Dwork, A. J., Rosoklija, G. B., Tamir, H., Arango, V., & Mann, J. J. (2013). Hippocampal granule neuron number and dentate gyrus volume in antidepressant-treated and untreated major depression. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38, 1068-1077. doi: 10.1038/NPP.2013.5.
- Boldrini, M., Underwood, M. D., Mann, J. J., & Arango, V. (2008). Serotonin-1A autoreceptor binding in the dorsal raphe nucleus of depressed suicides. *Journal of Psychiatric Research*, 42, 433-442. doi: 10.1016/J.JPSYCHIRES.2007.05.004.
- Bonapersona, V., Hoijsink, H., Abbinck, M., Baram, T. Z., Bolton, J. L., Bordes, J., Knop, J., Korosi, A., Krugers, H. J., Li, J. T., Naninck, E. F., Reemst, K., Ruigrok, S. R., Schmidt, M. V., Umeoka, E. H., Walker, C. D., Wang, X. D., Yam, K. Y., Sarabdjitsingh, R. A., & Joëls, M. (2021). Increasing the statistical power of animal experiments with historical control data. *Nature neuroscience*, 24, 470-477. doi: 10.1038/S41593-020-00792-3.
- Bonnefond, M., Kastner, S., & Jensen, O. (2017). Communication between Brain Areas Based on Nested Oscillations. *eNeuro*, 4. doi: 10.1523/ENEURO.0153-16.2017.
- Borbély, A. A., Tobler, I., Loepfe, M., Kupfer, D. J., Ulrich, R. F., Grochocinski, V., Doman, J., & Matthews, G. (1984). All-night spectral analysis of the sleep EEG in untreated depressives and normal controls. *Psychiatry Research*, 12, 27-33. doi: 10.1016/0165-1781(84)90135-5.
- Born, J. (2010). Slow-wave sleep and the consolidation of long-term memory. *The world journal of biological psychiatry: the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 11, 16-21. doi: 10.3109/15622971003637637.
- Bortolozzi, A., Castãe, A., Semakova, J., Santana, N., Alvarado, G., Cortés, R., Ferrés-Coy, A., Fernández, G., Carmona, M. C., Toth, M., Perales, J. C., Montefeltro, A., & Artigas, F. (2011). Selective siRNA-mediated suppression of 5-HT_{1A} autoreceptors evokes strong anti-depressant-like effects. *Molecular Psychiatry*, 17, 612-623. doi: 10.1038/mp.2011.92.
- Bosch, M., & Hayashi, Y. (2012). Structural plasticity of dendritic spines. *Current Opinion in Neurobiology*, 22, 383-388. doi: 10.1016/J.CONB.2011.09.002.
- Box, G. E. P., & Cox, D. R. (1964). An Analysis of Transformations. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 26, 211-252.
- Braff, D. L. (1993). Information processing and attention dysfunctions in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 19, 233-259. doi: 10.1093/SCHBUL/19.2.233.

- Bregman, T., Nona, C., Volle, J., Diwan, M., Raymond, R., Fletcher, P. J., Nobrega, J. N., & Hamani, C. (2018). Deep brain stimulation induces antidepressant-like effects in serotonin transporter knockout mice. *Brain Stimulation*, *11*, 423-425. doi: 10.1016/J.BRS.2017.11.008.
- Bregman, T., Reznikov, R., Diwan, M., Raymond, R., Butson, C. R., Nobrega, J. N., & Hamani, C. (2015). Antidepressant-like Effects of Medial Forebrain Bundle Deep Brain Stimulation in Rats are not Associated With Accumbens Dopamine Release. *Brain stimulation*, *8*, 708-713. doi: 10.1016/J.BRS.2015.02.007.
- Breier, A., Malhotra, A. K., Pinals, D. A., Weisenfeld, N. I., & Pickar, D. (1997). Association of ketamine-induced psychosis with focal activation of the prefrontal cortex in healthy volunteers. *The American journal of psychiatry*, *154*, 805-811. doi: 10.1176/AJP.154.6.805.
- Broadway, J. M., Holtzheimer, P. E., Hilimire, M. R., Parks, N. A., Devylder, J. E., Mayberg, H. S., & Corballis, P. M. (2012). Frontal Theta Cordance Predicts 6-Month Antidepressant Response to Subcallosal Cingulate Deep Brain Stimulation for Treatment-Resistant Depression: A Pilot Study. *Neuropsychopharmacology*, *37*, 1764-1772. doi: 10.1038/npp.2012.23.
- Brody, A. L., Saxena, S., Mandelkern, M. A., Fairbanks, L. A., Ho, M. L., & Baxter, L. R. (2001). Brain metabolic changes associated with symptom factor improvement in major depressive disorder. *Biological Psychiatry*, *50*, 171-178. doi: 10.1016/S0006-3223(01)01117-9.
- Browne, C. A., & Lucki, I. (2013). Antidepressant effects of ketamine: Mechanisms underlying fast-acting novel antidepressants. *Frontiers in Pharmacology*, *4*, DEC, 161. doi: 10.3389/FPHAR.2013.00161.
- Bruder, G. E., Stewart, J. W., Tenke, C. E., McGrath, P. J., Leite, P., Bhattacharya, N., & Quitkin, F. M. (2001). Electroencephalographic and perceptual asymmetry differences between responders and nonresponders to an SSRI antidepressant. *Biological Psychiatry*, *49*, 416-425. doi: 10.1016/S0006-3223(00)01016-7.
- Bruña, R., Maestú, F., & Pereda, E. (2018). Phase locking value revisited: teaching new tricks to an old dog. *Journal of neural engineering*, *15*. doi: 10.1088/1741-2552/AACFE4.
- Buuse, M. V. D. (2010). Modeling the Positive Symptoms of Schizophrenia in Genetically Modified Mice: Pharmacology and Methodology Aspects. *Schizophrenia Bulletin*, *36*, 246-270. doi: 10.1093/SCHBUL/SBP132.
- Buzsáki, G. (2002). Theta Oscillations in the Hippocampus. *Neuron*, *33*, 325-340. doi: 10.1016/S0896-6273(02)00586-X.
- Buzsáki, G. (2006). *Rhythms of the Brain*. Oxford University Press. doi: 10.1093/ACPROF:OSO/9780195301069.001.0001.
- Buzsáki, G. (2015). Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning. *Hippocampus*, *25*, 1073-1188. doi: 10.1002/HIPO.22488.
- Buzsáki, G., Anastassiou, C. A., & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*, 407-420. doi: 10.1038/nrn3241.
- Buzsáki, G., & Draguhn, A. (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. *Science (New York, N.Y.)*, *304*, 1926-1929. doi: 10.1126/SCIENCE.1099745.
- Buzsáki, G., & Moser, E. I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, *16*, 130-138. doi: 10.1038/nn.3304.
- Buzsáki, G., & Wang, X. J. (2012). Mechanisms of gamma oscillations. *Annual review of neuroscience*, *35*, 203-225. doi: 10.1146/ANNUREV-NEURO-062111-150444.
- Buzsáki, G., & Watson, B. O. (2012). Brain rhythms and neural syntax: implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease. *Dialogues in clinical neuroscience*, *14*, 345-367. doi: 10.31887/DCNS.2012.14.4/GBUZSAKI.
- Cadinu, D., Grayson, B., Podda, G., Harte, M. K., Doostdar, N., & Neill, J. C. (2018). NMDA receptor antagonist rodent models for cognition in schizophrenia and identification of novel drug treatments, an update. *Neuropharmacology*, *142*, 41-62. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2017.11.045.
- Caffino, L., Chio, M. D., Giannotti, G., Venniro, M., Mutti, A., Padovani, L., Cheung, D., Fumagalli, G. F., Yew, D. T., Fumagalli, F., & Chiamulera, C. (2016). The modulation of BDNF expression and signalling dissects the antidepressant from the reinforcing properties of ketamine: Effects of single infusion vs. chronic self-administration in rats. *Pharmacological Research*, *104*, 22-30. doi: 10.1016/J.PHRS.2015.12.014.
- Caixeta, F. V., Cornélio, A. M., Scheffer-Teixeira, R., Ribeiro, S., & Tort, A. B. (2013). Ketamine alters oscillatory coupling in the hippocampus. *Scientific Reports*, *3*, 1-10. doi: 10.1038/srep02348.
- Camargo, A., Pazini, F. L., Rosa, J. M., Wolin, I. A., Moretti, M., Rosa, P. B., Neis, V. B., & Rodrigues, A. L. S. (2019). Augmentation effect of ketamine by guanosine in the novelty-suppressed feeding test is dependent on mTOR signaling pathway. *Journal of Psychiatric Research*, *115*, 103-112. doi: 10.1016/J.JPSYCHIRES.2019.05.017.
- Campbell, I. G., & Feinberg, I. (1996). NREM delta stimulation following MK-801 is a response of sleep systems. *Journal of neurophysiology*, *76*, 3714-3720. doi: 10.1152/JN.1996.76.6.3714.
- Campbell, S. S., & Murphy, P. J. (2007). The nature of spontaneous sleep across adulthood. *Journal of Sleep Research*, *16*, 24-32. doi: 10.1111/J.1365-2869.2007.00567.X.
- Can, A., Dao, D. T., Terrillion, C. E., Piantadosi, S. C., Bhat, S., & Gould, T. D. (2012). The Tail Suspension Test. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 3769. doi: 10.3791/3769.
- Cannon, W. B. (1929). Organization for physiological homeostasis. *Physiological Reviews*, *9*, 399-431. doi: 10.1152/PHYSREV.1929.9.3.399.
- Canolty, R. T., Edwards, E., Dalal, S. S., Soltani, M., Nagarajan, S. S., Kirsch, H. E., Berger, M. S., Barbare,

- N. M., & Knight, R. T. (2006). High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science*, *313*, 1626-1628. DOI: [10.1126/SCIENCE.1128115](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1128115).
- Canolty, R. T., & Knight, R. T. (2010). The functional role of cross-frequency coupling. *Trends in Cognitive Sciences*, *14*, 506-515. DOI: [10.1016/j.tics.2010.09.001](https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.09.001).
- Canuso, C. M., Singh, J. B., Fedgchin, M., Alphas, L., Lane, R., Lim, P., Pinter, C., Hough, D., Sanacora, G., Manji, H., & Drevets, W. C. (2018). Efficacy and safety of intranasal esketamine for the rapid reduction of symptoms of depression and suicidality in patients at imminent risk for suicide: Results of a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *American Journal of Psychiatry*, *175*, 620-630. DOI: [10.1176/appi.ajp.2018.17060720](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.17060720).
- Cao, Z., Lin, C. T., Ding, W., Chen, M. H., Li, C. T., & Su, T. P. (2019). Identifying Ketamine Responses in Treatment-Resistant Depression Using a Wearable Forehead EEG. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, *66*, 1668-1679. DOI: [10.1109/TBME.2018.2877651](https://doi.org/10.1109/TBME.2018.2877651).
- Carbone, A. L., & Plested, A. J. (2012). Coupled Control of Desensitization and Gating by the Ligand Binding Domain of Glutamate Receptors. *Neuron*, *74*, 845-857. DOI: [10.1016/j.neuron.2012.04.020](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.020).
- Carlén, M., Meletis, K., Siegle, J. H., Cardin, J. A., Futai, K., Vierling-Claassen, D., Rühlmann, C., Jones, S. R., Deisseroth, K., Sheng, M., Moore, C. I., & Tsai, L. H. (2011). A critical role for NMDA receptors in parvalbumin interneurons for gamma rhythm induction and behavior. *Molecular Psychiatry*, *17*, 537-548. DOI: [10.1038/mp.2011.31](https://doi.org/10.1038/mp.2011.31).
- Carlén, M. (2017). What constitutes the prefrontal cortex? *Science*, *358*, 478-482. DOI: [10.1126/SCIENCE.AAN8868](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAN8868).
- Carreno, F. R., Donegan, J. J., Boley, A. M., Shah, A., DeGuzman, M., Frazer, A., & Lodge, D. J. (2015). Activation of a ventral hippocampus-medial prefrontal cortex pathway is both necessary and sufficient for an antidepressant response to ketamine. *Molecular Psychiatry*, *21*, 1298-1308. DOI: [10.1038/mp.2015.176](https://doi.org/10.1038/mp.2015.176).
- Carter, M., & Shieh, J. (2015). *Guide to Research Techniques in Neuroscience* (Second Edition). Academic Press. DOI: [10.1016/C2013-0-06868-5](https://doi.org/10.1016/C2013-0-06868-5).
- Caruncho, H. J., & Rivera-Baltanás, T. (2010). Biomarkers of depression. *Revista de Neurología*, *50*, 470-476. DOI: [10.33588/rn.5008.2010177](https://doi.org/10.33588/rn.5008.2010177).
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H. L., McClay, J., Mill, J., Martin, J., Braithwaite, A., & Poulton, R. (2003). Influence of life stress on depression: Moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, *301*, 386-389. DOI: [10.1126/SCIENCE.1083968](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1083968).
- 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*, 8.10A.1-8.10A.14. DOI: [10.1002/0471142301.NS0810AS55](https://doi.org/10.1002/0471142301.NS0810AS55).
- Castellani, S., & Adams, P. M. (1981). Acute and chronic phencyclidine effects on locomotor activity, stereotypy and ataxia in rats. *European Journal of Pharmacology*, *73*, 143-154. DOI: [10.1016/0014-2999\(81\)90086-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(81)90086-8).
- Castrén, E. (2005). Is mood chemistry? *Nature Reviews Neuroscience*, *6*, 241-246. DOI: [10.1038/nrn1629](https://doi.org/10.1038/nrn1629).
- Castrén, E., & Monteggia, L. M. (2021). Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling in Depression and Antidepressant Action. *Biological Psychiatry*, *90*, 128-136. DOI: [10.1016/J.BIOPSYCH.2021.05.008](https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2021.05.008).
- Catani, M., Dell'Acqua, F., & de Schotten, M. T. (2013). A revised limbic system model for memory, emotion and behaviour. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *37*, 1724-1737. DOI: [10.1016/J.NEUBIOREV.2013.07.001](https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2013.07.001).
- Cavanagh, J. T., Carson, A. J., Sharpe, M., & Lawrie, S. M. (2003). Psychological autopsy studies of suicide: a systematic review. *Psychological medicine*, *33*, 395-405. DOI: [10.1017/S0033291702006943](https://doi.org/10.1017/S0033291702006943).
- Caviness, V. S. (1975). Architectonic map of neocortex of the normal mouse. *Journal of Comparative Neurology*, *164*, 247-263. DOI: [10.1002/CNE.901640207](https://doi.org/10.1002/CNE.901640207).
- Celada, P., Puig, M. V., Amargós-Bosch, M., Adell, A., & Artigas, F. (2004). The therapeutic role of 5-HT1A and 5-HT2A receptors in depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, *29*, 252.
- Celada, P., Puig, M. V., Casanovas, J. M., Guillazo, G., & Artigas, F. (2001). Control of Dorsal Raphe Serotonergic Neurons by the Medial Prefrontal Cortex: Involvement of Serotonin-1A, GABAA, and Glutamate Receptors. *Journal of Neuroscience*, *21*, 9917-9929. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.21-24-09917.2001](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-24-09917.2001).
- Cenquizca, L. A., & Swanson, L. W. (2007). Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, *56*, 1-26. DOI: [10.1016/J.BRAINRESREV.2007.05.002](https://doi.org/10.1016/J.BRAINRESREV.2007.05.002).
- Cervera-Ferri, A., Teruel-Martí, V., Barceló-Molina, M., Martínez-Ricós, J., Luque-García, A., Martínez-Bellver, S., & Adell, A. (2016). Characterization of oscillatory changes in hippocampus and amygdala after deep brain stimulation of the infralimbic prefrontal cortex. *Physiological Reports*, *4*, e12854. DOI: [10.14814/PHY2.12854](https://doi.org/10.14814/PHY2.12854).
- Chang, L., Zhang, K., Pu, Y., Qu, Y., Wang, S., Xiong, Z., Ren, Q., Dong, C., Fujita, Y., & Hashimoto, K. (2019). Comparison of antidepressant and side effects in mice after intranasal administration of (R,S)-ketamine, (R)-ketamine, and (S)-ketamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *181*, 53-59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2019.04.008>.
- Chatterjee, M., Ganguly, S., Srivastava, M., & Palit, G. (2011). Effect of 'chronic' versus 'acute' ketamine administration and its 'withdrawal' effect on behavioural alterations in mice: Implications for experimental psychosis. *Behavioural Brain Research*, *216*, 247-254. DOI: [10.1016/J.BBR.2010.08.001](https://doi.org/10.1016/J.BBR.2010.08.001).
- Chen, C. M. A., Stanford, A. D., Mao, X., Abi-Dargham, A., Shungu, D. C., Lisanby, S. H., Schroeder, C. E., & Kegeles, L. S. (2014). GABA level, gamma oscillation, and working memory performance in schizophrenia. *NeuroImage. Clinical*, *4*, 531-539. DOI: [10.1016/J.NICL.2014.03.007](https://doi.org/10.1016/J.NICL.2014.03.007).
- Cheng, A. T., Chen, T. H., Chen, C. C., & Jenkins, R. (2000). Psychosocial and psychiatric risk factors for

- suicide. Case-control psychological autopsy study. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, 177, 360-365. doi: 10.1192/BJP.177.4.360.
- Cheng, Z., Teo, G., Krueger, S., Rock, T. M., Koh, H. W., Choi, H., & Vogel, C. (2016). Differential dynamics of the mammalian mRNA and protein expression response to misfolding stress. *Molecular Systems Biology*, 12, 855. doi: 10.15252/MSB.20156423.
- Chin, R. Y., & Lee, B. Y. (2008). *Principles and practice of clinical trial medicine*. Elsevier/Academic Press.
- Choudhary, K., Prasad, S. R., Lokhande, K. B., Murti, K., Singh, S., Ravichandiran, V., & Kumar, N. (2023). 4-Methylesculetin ameliorates LPS-induced depression-like behavior through the inhibition of NLRP3 inflammasome. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 356. doi: 10.3389/FPHAR.2023.1120508.
- Christensen, P., Gram, L. F., Kragh-Sørensen, P., Christensen, L., Kristensen, C. B., Pedersen, O. L., & Thomsen, H. Y. (1985). Spontaneous afternoon plasma cortisol in depression. *Journal of Affective Disorders*, 8, 271-278. doi: 10.1016/0165-0327(85)90026-6.
- Chrousos, G. P. (2000). Stress, chronic inflammation, and emotional and physical well being: Concurrent effects and chronic sequelae. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106, S275-S291. doi: 10.1067/mai.2000.110163.
- Ciocchi, S., Passecker, J., Malagon-Vina, H., Mikus, N., & Klausberger, T. (2015). Selective information routing by ventral hippocampal CA1 projection neurons. *Science*, 348, 560-563. doi: 10.1126/SCIENCE.AAA3245.
- Citri, A., & Malenka, R. C. (2007). Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions, and Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33, 18-41. doi: 10.1038/sj.npp.1301559.
- Clark, C. T., Weissbach, H., & Udenfriend, S. (1954). 5-hydroxytryptophan decarboxylase: preparation and properties. *Journal of Biological Chemistry*, 210, 139-148. doi: 10.1016/S0021-9258(18)65440-7.
- Clark, R. E., Zola, S. M., & Squire, L. R. (2000). Impaired Recognition Memory in Rats after Damage to the Hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 20, 8853-8860. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-23-08853.2000.
- Clarke, M., Razmjou, S., Prowse, N., Dwyer, Z., Litteljohn, D., Pentz, R., Anisman, H., & Hayley, S. (2017). Ketamine modulates hippocampal neurogenesis and pro-inflammatory cytokines but not stressor induced neurochemical changes. *Neuropharmacology*, 112, 210-220. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2016.04.021.
- Cloke, J. M., Nguyen, R., Chung, B. Y., Wasserman, D. I., Lisio, S. D., Kim, J. C., Bailey, C. D., & Winters, B. D. (2016). A Novel Multisensory Integration Task Reveals Robust Deficits in Rodent Models of Schizophrenia: Converging Evidence for Remediation via Nicotinic Receptor Stimulation of Inhibitory Transmission in the Prefrontal Cortex. *Journal of Neuroscience*, 36, 12570-12585. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1628-16.2016.
- Cohen, J. (1998). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* (2nd). Lawrence Erlbaum Associates. doi: 10.4324/9780203771587.
- Cohen, M. X. (2014). *Analyzing Neural Time Series Data: Theory and Practice*. The MIT Press. doi: 10.7551/MITPRESS/9609.001.0001.
- Cole, J., Costafreda, S. G., McGuffin, P., & Fu, C. H. (2011). Hippocampal atrophy in first episode depression: A meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Journal of Affective Disorders*, 134, 483-487. doi: 10.1016/J.JAD.2011.05.057.
- Colgin, L. L. (2013). Mechanisms and Functions of Theta Rhythms. *Annual review of neuroscience*, 36, 295-312. doi: 10.1146/ANNUREV-NEURO-062012-170330.
- Collingridge, G. L., Olsen, R. W., Peters, J., & Spedding, M. (2009). A nomenclature for ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology*, 56, 2-5. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2008.06.063.
- Conn, P. J., & Pin, J. P. (1997). Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 37, 205-237. doi: 10.1146/ANNUREV.PHARMTOX.37.1.205.
- Cooley, J. W., & Tukey, J. W. (1965). An Algorithm for the Machine Calculation of Complex Fourier Series. *Mathematics of computation*, 19, 297-301.
- Coppen, A. (1967). The Biochemistry of Affective Disorders. *The British Journal of Psychiatry*, 113, 1237-1264. doi: 10.1192/BJP.113.504.1237.
- Cornwell, B. R., Salvatore, G., Furey, M., Marquardt, C. A., Brutsche, N. E., Grillon, C., & Zarate, C. A. (2012). Synaptic potentiation is critical for rapid antidepressant response to ketamine in treatment-resistant major depression. *Biological psychiatry*, 72, 555-561. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2012.03.029.
- Corrigan, A., & Pickering, G. (2019). Ketamine and depression: a narrative review. *Drug Design, Development and Therapy*, 13, 3051-3067. doi: 10.2147/DDDT.S221437.
- Corssen, G., & Domino, E. F. (1966). Dissociative Anesthesia: Further Pharmacologic Studies and First Clinical Experience with the Phencyclidine Derivative CI-581. *Anesthesia and Analgesia*, 45, 29-40. doi: 10.1213/0000539-196601000-00007.
- Cotter, D. R., Pariante, C. M., & Everall, I. P. (2001). Glial cell abnormalities in major psychiatric disorders: the evidence and implications. *Brain Research Bulletin*, 55, 585-595. doi: 10.1016/S0361-9230(01)00527-5.
- Couillard-Despres, S., & Kirischuk, S. (2022). Keeping Excitation/Inhibition Ratio in Balance. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 5746. doi: 10.3390/IJMS23105746.
- Coutin-Churchman, P., & Moreno, R. (2008). Intracranial current density (LORETA) differences in QEEG frequency bands between depressed and non-depressed alcoholic patients. *Clinical Neurophysiology*, 119, 948-958. doi: 10.1016/J.CLINPH.2007.12.013.
- Cover, T. M., & Thomas, J. A. (2005). *Elements of Information Theory* (2nd). John Wiley; Sons. doi: 10.1002/047174882X.
- Cristo, G. D., Berardi, N., Cancedda, L., Pizzorusso, T., Putignano, E., Ratto, G. M., & Maffei, L. (2001).

- Requirement of ERK activation for visual cortical plasticity. *Science*, 292, 2337-2340. DOI: [10.1126/SCIENCE.1059075](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1059075).
- Cryan, J. F., Markou, A., & Lucki, I. (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in pharmacological sciences*, 23, 238-245. DOI: [10.1016/S0165-6147\(02\)02017-5](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(02)02017-5).
- Cryan, J. F., Mombereau, C., & Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 29, 571-625. DOI: [10.1016/J.NEUBIOREV.2005.03.009](https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2005.03.009).
- Cui, X. Y., Yang, G., Cui, S. Y., Cao, Q., Huang, Y. L., Ding, H., Ye, H., Zhang, X. Q., Wang, Z. J., & Zhang, Y. H. (2018). Sleep patterns deteriorate over time in chronic corticosterone-treated rats. *Neuroscience letters*, 682, 74-78. DOI: [10.1016/J.NEULET.2018.06.017](https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2018.06.017).
- Cuijpers, P., Karyotaki, E., Weitz, E., Andersson, G., Hollon, S. D., & Straten, A. V. (2014). The effects of psychotherapies for major depression in adults on remission, recovery and improvement: A meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 159, 118-126. DOI: [10.1016/J.JAD.2014.02.026](https://doi.org/10.1016/J.JAD.2014.02.026).
- Cunningham, E. T., & Sawchenko, P. E. (1988). Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *Journal of Comparative Neurology*, 274, 60-76. DOI: [10.1002/CNE.902740107](https://doi.org/10.1002/CNE.902740107).
- Curic, S., Andreou, C., Nolte, G., Steinmann, S., Thiebes, S., Polomac, N., Haaf, M., Rauh, J., Leicht, G., & Mulert, C. (2021). Ketamine Alters Functional Gamma and Theta Resting-State Connectivity in Healthy Humans: Implications for Schizophrenia Treatment Targeting the Glutamate System. *Frontiers in Psychiatry*, 12, 854. DOI: [10.3389/FPSYT.2021.671007](https://doi.org/10.3389/FPSYT.2021.671007).
- Curtis, H. J., & Cole, K. S. (1942). Membrane resting and action potentials from the squid giant axon. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, 19, 135-144. DOI: [10.1002/JCP.1030190202](https://doi.org/10.1002/JCP.1030190202).
- Czéh, B., Fuchs, E., Wiborg, O., & Simon, M. (2016). Animal models of major depression and their clinical implications. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 64, 293-310. DOI: [10.1016/J.PNPBP.2015.04.004](https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2015.04.004).
- Dahlström, A., & Fuxe, K. (1964). Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)*, 64, 232-278.
- Dallmant, M. F., & Yates, F. E. (1969). Dynamic Asymmetries In The Corticosteroid Feedback Path And Distribution Metabolism-Binding Elements Of The Adrenocortical System. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 156, 696-721. DOI: [10.1111/J.1749-6632.1969.TB14008.X](https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1969.TB14008.X).
- Daly, E. J., Trivedi, M. H., Janik, A., Li, H., Zhang, Y., Li, X., Lane, R., Lim, P., Duca, A. R., Hough, D., Thase, M. E., Zajecka, J., Winokur, A., Divacka, I., Fagiolini, A., Cudała, W. J., Bitter, I., Blier, P., Shelton, R. C., ... Singh, J. B. (2019). Efficacy of Esketamine Nasal Spray Plus Oral Antidepressant Treatment for Relapse Prevention in Patients With Treatment-Resistant Depression: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry*, 76, 893-903. DOI: [10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2019.1189](https://doi.org/10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2019.1189).
- Damazio-Pacheco, F., Canever, L., Mastella, G. A., Wessler, P. G., Godoi, A. K., Hubbe, I., da Costa Afonso, A., Celso, D., Quevedo, J., & Zugno, A. I. (2019). Effects of ketamine on prepubertal Wistar rats: Implications on behavioral parameters for Childhood-Onset Schizophrenia. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 79, 49-53. DOI: [10.1016/J.IJDEVNEU.2019.10.006](https://doi.org/10.1016/J.IJDEVNEU.2019.10.006).
- Dantec, Y. L., Hache, G., Guilloux, J. P., Guiard, B. P., David, D. J., Adrien, J., & Escourrou, P. (2014). NREM sleep hypersomnia and reduced sleep/wake continuity in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression based on chronic corticosterone administration. *Neuroscience*, 274, 357-368. DOI: [10.1016/J.NEUROSCIENCE.2014.05.050](https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2014.05.050).
- Das, J. (2020). Repurposing of Drugs-The Ketamine Story. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 13514-13525. DOI: [10.1021/ACS.JMEDCHEM.0C01193](https://doi.org/10.1021/ACS.JMEDCHEM.0C01193).
- Dash, M. B. (2019). Infralow coordination of slow wave activity through altered neuronal synchrony. *Sleep*, 42, 1-13. DOI: [10.1093/SLEEP/ZSZ170](https://doi.org/10.1093/SLEEP/ZSZ170).
- Datta, S., & MacLean, R. R. (2007). Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: Reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 31, 775-824. DOI: [10.1016/J.NEUBIOREV.2007.02.004](https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2007.02.004).
- Datta, S., & Siwek, D. F. (2002). Single cell activity patterns of pedunculopontine tegmentum neurons across the sleep-wake cycle in the freely moving rats. *Journal of Neuroscience Research*, 70, 611-621. DOI: [10.1002/JNR.10405](https://doi.org/10.1002/JNR.10405).
- Dattani, S., Ritchie, H., & Roser, M. (2021). *Mental Health*.
- David, A., & Pierre, L. (2009). *Hippocampal Neuroanatomy*. DOI: [10.1093/ACPROF:OSO/9780195100273.003.0003](https://doi.org/10.1093/ACPROF:OSO/9780195100273.003.0003).
- David, D. J., Samuels, B. A., Rainer, Q., Wang, J. W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D. A., Guiard, B. P., Guilloux, J. P., Artymyshyn, R. P., Gardier, A. M., Gerald, C., Antonijevic, I. A., Leonardo, E. D., & Hen, R. (2009). Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron*, 62, 479-493. DOI: [10.1016/j.neuron.2009.04.017](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.04.017).
- Davidson, R. J., & Slagter, H. A. (2000). Probing emotion in the developing brain: Functional neuroimaging in the assessment of the neural substrates of emotion in normal and disordered children and adolescents. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews*, 6, 166-170. DOI: [https://doi.org/10.1002/1098-2779\(2000\)6:3%3C166::AID-MRDD3%3E3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1098-2779(2000)6:3%3C166::AID-MRDD3%3E3.0.CO;2-O).
- Daviu, N., Bruchas, M. R., Moghaddam, B., Sandi, C., & Beyeler, A. (2019). Neurobiological links between stress and anxiety. *Neurobiology of Stress*, 11, 100191. DOI: [10.1016/J.YNSTR.2019.100191](https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2019.100191).
- Dayas, C. V., Buller, K. M., Crane, J. W., Xu, Y., & Day, T. A. (2001). Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive re-

- recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. *The European journal of neuroscience*, *14*, 1143-1152. doi: 10.1046/J.0953-816X.2001.01733.X.
- Dean, J., & Keshavan, M. (2017). The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian Journal of Psychiatry*, *27*, 101-111. doi: 10.1016/J.AJP.2017.01.025.
- de Graaf, R. A., Mason, G. F., Patel, A. B., Behar, K. L., & Rothman, D. L. (2003). In vivo 1H-[13C]-NMR spectroscopy of cerebral metabolism. *NMR in Biomedicine*, *16*, 339-357. doi: 10.1002/NBM.847.
- de Kloet, E. R., Otte, C., Kumsta, R., Kok, L., Hillegers, M. H., Hasselmann, H., Kliegel, D., & Joëls, M. (2016). Stress and Depression: a Crucial Role of the Mineralocorticoid Receptor. *Journal of Neuroendocrinology*, *28*. doi: 10.1111/JNE.12379.
- Delgado, P. L. (2000). Depression: The Case for a Monoamine Deficiency. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *61*, 7-11.
- Delgado, P. L., Miller, H. L., Salomon, R. M., Licinio, J., Krystal, J. H., Moreno, F. A., Heninger, G. R., & Charney, D. S. (1999). Tryptophan depletion challenge in depressed patients treated with desipramine or fluoxetine: Implications for the role of serotonin in the mechanism of antidepressant action. *Biological Psychiatry*, *46*, 212-220. doi: 10.1016/S0006-3223(99)00014-1.
- Delgado-Sallent, C., Gener, T., Nebot, P., López-Cabezón, C., & Puig, M. V. (2023). Neural substrates of cognitive impairment in a NMDAR hypofunction mouse model of schizophrenia and partial rescue by risperidone. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *17*, 116. doi: 10.3389/FNCEL.2023.1152248.
- de Lima, M. N., Luft, T., Roesler, R., & Schröder, N. (2006). Temporary inactivation reveals an essential role of the dorsal hippocampus in consolidation of object recognition memory. *Neuroscience Letters*, *405*, 142-146. doi: 10.1016/J.NEULET.2006.06.044.
- Delorme, A., & Makeig, S. (2004). EEGLAB: An open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, *134*, 9-21. doi: 10.1016/j.jneumeth.2003.10.009.
- DeMartinis, N., & Winokur, A. (2008). Effects of Psychiatric Medications on Sleep and Sleep Disorders. *CNS and Neurological Disorders - Drug Targets*, *6*, 17-29. doi: 10.2174/187152707779940835.
- Deng, X., Chen, X., Zhang, L., Gao, Q., Li, X., & An, S. (2022). Adolescent social anxiety undermines adolescent-parent interbrain synchrony during emotional processing: A hyperscanning study. *International Journal of Clinical and Health Psychology*, *22*, 100329. doi: 10.1016/J.IJCHP.2022.100329.
- Destexhe, A., Rudolph, M., Fellous, J. M., & Sejnowski, T. J. (2001). Fluctuating synaptic conductances recreate in vivo-like activity in neocortical neurons. *Neuroscience*, *107*, 13-24. doi: 10.1016/S0306-4522(01)00344-X.
- Diekelmann, S., & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience*, *11*, 114-126. doi: 10.1038/nrn2762.
- Dieterich, A., Srivastava, P., Sharif, A., Stech, K., Floeder, J., Yohn, S. E., & Samuels, B. A. (2019). Chronic corticosterone administration induces negative valence and impairs positive valence behaviors in mice. *Translational Psychiatry* *2019* *9:1*, *9*, 1-13. doi: 10.1038/s41398-019-0674-4.
- Ding, H., Cui, X. Y., Cui, S. Y., Ye, H., Hu, X., Zhao, H. L., Liu, Y. T., & Zhang, Y. H. (2018). Depression-like behaviors induced by chronic corticosterone exposure via drinking water: Time-course analysis. *Neuroscience Letters*, *687*, 202-206. doi: 10.1016/J.NEULET.2018.09.059.
- Dingledine, R., & Conn, P. J. (2000). Peripheral Glutamate Receptors: Molecular Biology and Role in Taste Sensation. *The Journal of Nutrition*, *130*, 1039S-1042S. doi: 10.1093/JN/130.4.1039S.
- Dinis-Oliveira, R. J. (2017). Metabolism and metabolomics of ketamine: a toxicological approach. *Forensic sciences research*, *2*, 2-10. doi: 10.1080/20961790.2017.1285219.
- DiSabato, D. J., Quan, N., & Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: the devil is in the details. *Journal of Neurochemistry*, *139*, 136-153. doi: 10.1111/JNC.13607.
- Doerge, K., Kumar, M., Bates, A. T., Das, D., Boks, M. P. M., & Liddle, P. F. (2010). Time and frequency domain event-related electrical activity associated with response control in schizophrenia. *Clinical Neurophysiology*, *121*, 1760-1771. doi: 10.1016/J.CLINPH.2010.03.049.
- Domino, E. F., Chodoff, P., & Corssen, G. (1965). Pharmacologic effects of CI-581, a new dissociative anesthetic, in man. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *6*, 279-291. doi: 10.1002/CPT.196563279.
- Domino, E. F., & Warner, D. S. (2010). Taming the Ketamine Tiger. *Anesthesiology*, *113*, 678-684. doi: 10.1097/ALN.0B013E3181ED09A2.
- Dongen, A. V. (2009). Biology of the NMDA Receptor. *Frontiers in Neuroscience*.
- Donkelaar, E. L. V., Vaessen, K. R., Pawluski, J. L., Sierksma, A. S., Blokland, A., Cañete, R., & Steinbusch, H. W. (2014). Long-Term Corticosterone Exposure Decreases Insulin Sensitivity and Induces Depressive-Like Behaviour in the C57BL/6NcrJ Mouse. *PLOS ONE*, *9*, e106960. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0106960.
- dos Santos Lima, G. Z., Lobao-Soares, B., Corso, G., Belchior, H., Lopes, S. R., de Lima Prado, T., Nascimento, G., de França, A. C., Fontenele-Araújo, J., & Ivanov, P. C. (2019). Hippocampal and cortical communication around micro-arousals in slow-wave sleep. *Scientific Reports*, *9*, 1-13. doi: 10.1038/s41598-019-42100-5.
- Dossat, A. M., Wright, K. N., Strong, C. E., & Kabbaj, M. (2018). Behavioral and biochemical sensitivity to low doses of ketamine: Influence of estrous cycle in C57BL/6 mice. *Neuropharmacology*, *130*, 30-41. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2017.11.022.
- du Jardin, K. G., Liebenberg, N., Müller, H. K., Elfving, B., Sanchez, C., & Wegener, G. (2016). Differential interaction with the serotonin system by S-ketamine, vortioxetine, and fluoxetine in a genetic rat model of depression. *Psychopharmacology*, *233*, 2813-2825. doi: 10.1007/S00213-016-4327-5.

- Dulawa, S. C., & Hen, R. (2005). Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *29*, 771-783. DOI: [10.1016/J.NEUBIOREV.2005.03.017](https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2005.03.017).
- Duman, C. H. (2010). Models of Depression. *Vitamins and Hormones*, *82*, 1-21. DOI: [10.1016/S0083-6729\(10\)82001-1](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(10)82001-1).
- Duman, R. S. (2022). Neuronal damage and protection in the pathophysiology and treatment of psychiatric illness: stress and depression. *Dialogues in clinical neuroscience*, *11*, 239-255. DOI: [10.31887/DCNS.2009.11.3/RSDUMAN](https://doi.org/10.31887/DCNS.2009.11.3/RSDUMAN).
- Duman, R. S., & Aghajanian, G. K. (2012). Synaptic Dysfunction in Depression: Potential Therapeutic Targets. *Science*, *338*, 68-72. DOI: [10.1126/SCIENCE.1222939](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1222939).
- Duman, R. S., Aghajanian, G. K., Sanacora, G., & Krystal, J. H. (2016). Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. *Nature Medicine*, *22*, 238-249. DOI: [10.1038/nm.4050](https://doi.org/10.1038/nm.4050).
- Duman, R. S., Deyama, S., & Fogaça, M. V. (2021). Role of BDNF in the pathophysiology and treatment of depression: Activity-dependent effects distinguish rapid-acting antidepressants. *European Journal of Neuroscience*, *53*, 126-139. DOI: [10.1111/EJN.14630](https://doi.org/10.1111/EJN.14630).
- Duman, R. S., Sanacora, G., & Krystal, J. H. (2019). Altered Connectivity in Depression: GABA and Glutamate Neurotransmitter Deficits and Reversal by Novel Treatments. *Neuron*, *102*, 75-90. DOI: [10.1016/J.NEURON.2019.03.013](https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2019.03.013).
- Duncan, W. C., Ballard, E. D., & Zarate, C. A. (2019). Ketamine-Induced Glutamatergic Mechanisms of Sleep and Wakefulness: Insights for Developing Novel Treatments for Disturbed Sleep and Mood. *Handbook of Experimental Pharmacology*, *253*, 337-358. DOI: [10.1007/164_2017_51/FIGURES/2](https://doi.org/10.1007/164_2017_51/FIGURES/2).
- Duncan, W. C., Sarasso, S., Ferrarelli, F., Selter, J., Riedner, B. A., Hejazi, N. S., Yuan, P., Brutsche, N., Manji, H. K., Tononi, G., & Zarate, C. A. (2013). Concomitant BDNF and sleep slow wave changes indicate ketamine-induced plasticity in major depressive disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *16*, 301-311. DOI: [10.1017/S1461145712000545](https://doi.org/10.1017/S1461145712000545).
- Duncan, W. C., Slonena, E., Hejazi, N. S., Brutsche, N., Yu, K. C., Park, L., Ballard, E. D., & Zarate, C. A. (2017). Motor-Activity Markers of Circadian Timekeeping Are Related to Ketamine's Rapid Antidepressant Properties. *Biological Psychiatry*, *82*, 361-369. DOI: [10.1016/j.biopsych.2017.03.011](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.03.011).
- Duncan, W. C., & Zarate, C. A. (2013a). Ketamine, sleep, and depression: Current status and new questions. *Current Psychiatry Reports*, *15*, 1-7. DOI: [10.1007/S11920-013-0394-Z](https://doi.org/10.1007/S11920-013-0394-Z).
- Duncan, W. C., & Zarate, C. A. (2013b). Ketamine, sleep, and depression: Current status and new questions. *Current Psychiatry Reports*, *15*, 1-7. DOI: [10.1007/S11920-013-0394-Z/METRICS](https://doi.org/10.1007/S11920-013-0394-Z/METRICS).
- Dunwiddie, T. V., & Lynch, G. (1979). The relationship between extracellular calcium concentrations and the induction of hippocampal long-term potentiation. *Brain Research*, *169*, 103-110. DOI: [10.1016/0006-8993\(79\)90377-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90377-9).
- Durán, E., Oyanedel, C. N., Niethard, N., Inostroza, M., & Born, J. (2018). Sleep stage dynamics in neocortex and hippocampus. *Sleep*, *41*. DOI: [10.1093/SLEEP/ZSY060](https://doi.org/10.1093/SLEEP/ZSY060).
- Dwyer, J. M., Lepack, A. E., & Duman, R. S. (2012). mTOR activation is required for the antidepressant effects of mGluR2/3 blockade. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *15*, 429-434. DOI: [10.1017/S1461145711001702](https://doi.org/10.1017/S1461145711001702).
- Eagle, A., Mazei-Robison, M., & Robison, A. (2016). Sucrose Preference Test to Measure Stress-induced Anhedonia. *BIO-PROTOCOL*, *6*. DOI: [10.21769/BIOPROTOCOL.1822](https://doi.org/10.21769/BIOPROTOCOL.1822).
- Ebert, B., Mikkelsen, S., Thorkildsen, C., & Borgbjerg, F. M. (1997). Norketamine, the main metabolite of ketamine, is a non-competitive NMDA receptor antagonist in the rat cortex and spinal cord. *European Journal of Pharmacology*, *333*(1), 99-104. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(97\)01116-3](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(97)01116-3).
- Edemann-Calleesen, H., Voget, M., Empl, L., Vogel, M., Wieske, F., Rummel, J., Heinz, A., Mathé, A. A., Hadar, R., & Winter, C. (2015). Medial Forebrain Bundle Deep Brain Stimulation has Symptom-specific Anti-depressant Effects in Rats and as Opposed to Ventromedial Prefrontal Cortex Stimulation Interacts With the Reward System. *Brain stimulation*, *8*, 714-723. DOI: [10.1016/J.BRS.2015.02.009](https://doi.org/10.1016/J.BRS.2015.02.009).
- Edwards, L. (2003). *Physics*. McGraw-Hill Ryerson.
- Eekelen, J. A. V., Jiang, W., Kloet, E. R. D., & Bohn, M. C. (1988). Distribution of the mineralocorticoid and the glucocorticoid receptor mRNAs in the rat hippocampus. *Journal of neuroscience research*, *21*, 88-94. DOI: [10.1002/JNR.490210113](https://doi.org/10.1002/JNR.490210113).
- Ehlers, C. L., Havstad, J. W., & Kupfer, D. J. (1996). Estimation of the time course of slow-wave sleep over the night in depressed patients: Effects of clomipramine and clinical response. *Biological Psychiatry*, *39*, 171-181. DOI: [10.1016/0006-3223\(95\)00139-5](https://doi.org/10.1016/0006-3223(95)00139-5).
- Ehlers, C. L., Reed, T. K., & Henriksen, S. J. (1986). Effects of corticotropin-releasing factor and growth hormone-releasing factor on sleep and activity in rats. *Neuroendocrinology*, *42*, 467-474. DOI: [10.1159/000124489](https://doi.org/10.1159/000124489).
- Ehrlich, I., Klein, M., Rumpel, S., & Malinow, R. (2007). PSD-95 is required for activity-driven synapse stabilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*, 4176-4181. DOI: [10.1073/PNAS.0609307104](https://doi.org/10.1073/PNAS.0609307104).
- Ehrlich, I., & Malinow, R. (2004). Postsynaptic Density 95 controls AMPA Receptor Incorporation during Long-Term Potentiation and Experience-Driven Synaptic Plasticity. *Journal of Neuroscience*, *24*, 916-927. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.4733-03.2004](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4733-03.2004).
- Eitan, R., Fontaine, D., Benoît, M., Giordana, C., Darmon, N., Israel, Z., Linesky, E., Arkadir, D., Ben-Naim, S., Iserles, M., Bergman, H., Hulse, N., Abdelghani, M., McGuffin, P., Farmer, A., DeLea, P., Ashkan, K., & Lerer, B. (2018). One year double blind study of high vs low frequency subcallosal cingulate stimulation for depression. *Journal of psychiatric research*, *96*, 124-134. DOI: [10.1016/J.JPSYCHIRES.2017.09.026](https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHIRES.2017.09.026).

- Elfving, B., Liebenberg, N., du Jardin, K., Sanchez, C., Wegener, G., & Müller, H. K. (2022). Single dose S-ketamine rescues transcriptional dysregulation of Mtor and Nrp2 in the prefrontal cortex of FSL rats 1 hour but not 14 days post dosing. *European Neuropsychopharmacology*, *65*, 56-67. DOI: 10.1016/J.EURONEURO.2022.10.011.
- Ellenbogen, J. M., Hurford, M. O., Liebeskind, D. S., Neimark, G. B., & Weiss, D. (2005). Ventromedial frontal lobe trauma. *Neurology*, *64*, 757-757. DOI: 10.1212/WNL.64.4.757.
- Elliot, L. S., Dudai, Y., Kandel, E. R., & Abrams, T. W. (1989). Ca²⁺/calmodulin sensitivity may be common to all forms of neural adenylate cyclase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *86*, 9564-9568. DOI: 10.1073/PNAS.86.23.9564.
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural brain research*, *31*, 47-59. DOI: 10.1016/0166-4328(88)90157-X.
- Epperson, C. N., Gueorguieva, R., Czarkowski, K. A., Stiklus, S., Sellers, E., Krystal, J. H., Rothman, D. L., & Mason, G. F. (2006). Preliminary evidence of reduced occipital GABA concentrations in puerperal women: A 1H-MRS study. *Psychopharmacology*, *186*, 425-433. DOI: 10.1007/S00213-006-0313-7.
- Ergen, M., Marbach, S., Brand, A., Başar-Eroğlu, C., & Demiralp, T. (2008). P3 and delta band responses in visual oddball paradigm in schizophrenia. *Neuroscience Letters*, *440*, 304-308. DOI: 10.1016/J.NEULET.2008.05.054.
- Eschenko, O., Ramadan, W., Mölle, M., Born, J., & Sara, S. J. (2008). Sustained increase in hippocampal sharp-wave ripple activity during slow-wave sleep after learning. *Learning and Memory*, *15*, 222-228. DOI: 10.1101/LM.726008.
- Espinosa, F., & Kavalali, E. T. (2009). NMDA receptor activation by spontaneous glutamatergic neurotransmission. *Journal of Neurophysiology*, *101*, 2290-2296. DOI: 10.1152/JN.90754.2008.
- Espinoza Oyarce, D. A., Shaw, M. E., Alateeq, K., & Cherbuin, N. (2020). Volumetric brain differences in clinical depression in association with anxiety: a systematic review with met-analysis. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, *45*, 406-429. DOI: 10.1503/JPN.190156.
- Esteve, D. (2021). *Estudio de la migración neuronal de las células nerviosas de la SVZ en la enfermedad de Alzheimer*.
- Estrada-Reyes, R., Quero-Chávez, D. B., Trueta, C., Miranda, A., Valdés-Tovar, M., Alarcón-Elizalde, S., Oikawa-Sala, J., Argueta, J., Constantino-Jonapa, L. A., Muñoz-Estrada, J., Dubocovich, M. L., & Benítez-King, G. (2021). Low Doses of Ketamine and Melatonin in Combination Produce Additive Antidepressant-like Effects in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*, 9225. DOI: 10.3390/IJMS22179225.
- Fan, T., Zhang, Y., Wang, Z., Yi, M., Liu, N., Hu, C., & Luo, L. (2022). Effects of lateral habenula and ventral medial prefrontal cortex deep brain stimulation in rats. *Journal of Neurorestoration*, *10*, 43-51. DOI: 10.26599/JNR.2022.9040006.
- Faraguna, U., Vyazovskiy, V. V., Nelson, A. B., Tononi, G., & Cirelli, C. (2008). A Causal Role for Brain-Derived Neurotrophic Factor in the Homeostatic Regulation of Sleep. *Journal of Neuroscience*, *28*, 4088-4095. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5510-07.2008.
- Farber, N. B. (2003). The NMDA Receptor Hypofunction Model of Psychosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1003*, 119-130. DOI: 10.1196/ANNALS.1300.008.
- Farge, M. (1992). Wavelet transforms and their applications to turbulence. *Annual review of fluid mechanics*, *24*, 395-458. DOI: 10.1146/ANNUREV.FL.24.010192.002143.
- Fava, M., Freeman, M. P., Flynn, M., Judge, H., Hoepfner, B. B., Cusin, C., Ionescu, D. F., Mathew, S. J., Chang, L. C., Iosifescu, D. V., Murrugh, J., DeBattista, C., Schatzberg, A. F., Trivedi, M. H., Jha, M. K., Sanacora, G., Wilkinson, S. T., & Papakostas, G. I. (2020). Double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial of intravenous ketamine as adjunctive therapy in treatment-resistant depression (TRD). *Molecular psychiatry*, *25*, 1592-1603. DOI: 10.1038/S41380-018-0256-5.
- Feige, B., Voderholzer, U., Riemann, D., Dittmann, R., Hohagen, F., & Berger, M. (2001). Fluoxetine and Sleep EEG: Effects of a Single Dose, Subchronic Treatment, and Discontinuation in Healthy Subjects. *Neuropsychopharmacology*, *26*, 246-258. DOI: 10.1016/S0893-133X(01)00314-1.
- Feinberg, I., & Campbell, I. G. (1993). Ketamine Administration During Waking Increases Delta EEG Intensity in Rat Sleep. *Neuropsychopharmacology*, *9*, 41-48. DOI: 10.1038/npp.1993.41.
- Feldman, S., Conforti, N., & Weidenfeld, J. (1995). Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *19*, 235-240. DOI: 10.1016/0149-7634(94)00062-6.
- Felger, J. C., & Lotrich, F. E. (2013). Inflammatory cytokines in depression: Neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience*, *246*, 199-229. DOI: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2013.04.060.
- Felix-Ortiz, A. C., & Tye, K. M. (2014). Amygdala Inputs to the Ventral Hippocampus Bidirectionally Modulate Social Behavior. *Journal of Neuroscience*, *34*, 586-595. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4257-13.2014.
- Felten, D. L., O'Banion, M. K., & Maida, M. E. (2016). *Netter. Atlas de neurociencia* (Elsevier, Ed.). Elsevier.
- Feng, J., Cheng, W., Rolls, E. T., & Ruan, H. (2018). Functional Connectivities in the Brain That Mediate the Association Between Depressive Problems and Sleep Quality. *JAMA Psychiatry*, *75*, 1052-1061. DOI: 10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2018.1941.
- Fernández-Palleiro, P., Rivera-Baltanás, T., Rodríguez-Amorim, D., Fernández-Gil, S., del Carmen Vallejo-Curto, M., Álvarez-Ariza, M., López, M., Rodríguez-Jamardo, C., Benavente, J. L., de las Heras, E., Olivares, J. M., & Spuch, C. (2019). Brainwaves Oscillations as a Potential Biomarker for Major Depression Disorder Risk. *Clinical EEG and neuroscience*, *51*, 3-9. DOI: 10.1177/1550059419876807.

- Ferrari, A. J., Norman, R. E., Freedman, G., Baxter, A. J., Pirkis, J. E., Harris, M. G., Page, A., Carnahan, E., Degenhardt, L., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2014). The burden attributable to mental and substance use disorders as risk factors for suicide: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *PloS one*, *9*. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0091936.
- Ferreira, M. F., Castanheira, L., Sebastião, A. M., & Telles-Correia, D. (2018). Depression Assessment in Clinical Trials and Pre-clinical Tests: A Critical Review. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *18*, 1677-1703. doi: 10.2174/1568026618666181115095920.
- Ferrer, A., & Artigas, F. (1994). Effects of single and chronic treatment with tranlycypromine on extracellular serotonin in rat brain. *European Journal of Pharmacology*, *263*(3), 227-234. doi: https://doi.org/10.1016/0014-2999(94)90717-X.
- Finkelstein, G. (2015). Mechanical neuroscience: Emil du Bois-Reymond's innovations in theory and practice. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *9*, 133. doi: 10.3389/FNSYS.2015.00133.
- Fišar, Z. (2016). Drugs related to monoamine oxidase activity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *69*, 112-124. doi: 10.1016/J.PNPBP.2016.02.012.
- Fišar, Z., & Raboch, J. (2008). Depression, antidepressants, and peripheral blood components. *Neuroendocrinology Letters*, *29*, 18283265-290108.
- Fitzgerald, P. J., & Watson, B. O. (2018). Gamma oscillations as a biomarker for major depression: an emerging topic. *Translational Psychiatry*, *8*, 1-7. doi: 10.1038/s41398-018-0239-y.
- Flores-Soto, M. E., Chaparro-Huerta, V., Escoto-Delgado, M., Vazquez-Valls, E., González-Castañeda, R. E., & Beas-Zarate, C. (2012). Estructura y función de las subunidades del receptor a glutamato tipo NMDA. *Neurología*, *27*, 301-310. doi: 10.1016/J.NRL.2011.10.014.
- Fonseca-Rodrigues, D., Gonçalves, J., Laranjeira, I., Almeida, A., & Pinto-Ribeiro, F. (2022). Sucrose intake and preference by Wistar Han rats are not influenced by sex or food/water deprivation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *216*, 173387. doi: 10.1016/J.PBB.2022.173387.
- Forbes, N. F., Stewart, C. A., Matthews, K., & Reid, I. C. (1996). Chronic Mild Stress and Sucrose Consumption: Validity as a Model of Depression. *Physiology and Behavior*, *60*, 1481-1484. doi: 10.1016/S0031-9384(96)00305-8.
- Ford, J. M., Roach, B. J., Hoffman, R. S., & Mathalon, D. H. (2008). The dependence of P300 amplitude on gamma synchrony breaks down in schizophrenia. *Brain Research*, *1235*, 133-142. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2008.06.048.
- Forster, G. L., Feng, N., Watt, M. J., Korzan, W. J., Mouw, N. J., Summers, C. H., & Renner, K. J. (2006). Corticotropin-releasing factor in the dorsal raphe elicits temporally distinct serotonergic responses in the limbic system in relation to fear behavior. *Neuroscience*, *141*, 1047-1055. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.04.006.
- Foster, F. G., Kupfer, D. J., Coble, P., & McPartland, R. J. (1976). Rapid Eye Movement Sleep Denial: An Objective Indicator in Severe Medical-Depressive Syndromes. *Archives of General Psychiatry*, *33*, 1119-1123. doi: 10.1001/ARCHPSYC.1976.01770090109011.
- Franceschelli, A., Sens, J., Herchick, S., Thelen, C., & Pitychoutis, P. M. (2015). Sex differences in the rapid and the sustained antidepressant-like effects of ketamine in stress-naïve and "depressed" mice exposed to chronic mild stress. *Neuroscience*, *290*, 49-60. doi: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.01.008.
- Freiwald, W. A., Valdes, P., Bosch, J., Biscay, R., Jimenez, J. C., Rodriguez, L. M., Rodriguez, V., Kreiter, A. K., & Singer, W. (1999). Testing non-linearity and directedness of interactions between neural groups in the macaque inferotemporal cortex. *Journal of neuroscience methods*, *94*, 105-119. doi: 10.1016/S0165-0270(99)00129-6.
- Frossard, J., & Renaud, O. (2021). Permutation Tests for Regression, ANOVA, and Comparison of Signals: The permuco Package. *Journal of Statistical Software*, *99*(15), 1-32. doi: 10.18637/jss.v099.i15.
- Fu, C. H., Williams, S. C., Cleare, A. J., Brammer, M. J., Walsh, N. D., Kim, J., Andrew, C. M., Pich, E. M., Williams, P. M., Reed, L. J., Mitterschiffthaler, M. T., Suckling, J., & Bullmore, E. T. (2004). Attenuation of the neural response to sad faces in major depression by antidepressant treatment: a prospective, event-related functional magnetic resonance imaging study. *Archives of general psychiatry*, *61*, 877-889. doi: 10.1001/ARCHPSYC.61.9.877.
- Fuchikami, M., Thomas, A., Liu, R., Wohleb, E. S., Land, B. B., DiLeone, R. J., Aghajanian, G. K., & Duman, R. S. (2015). Optogenetic stimulation of infralimbic PFC reproduces ketamine's rapid and sustained antidepressant actions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*, 8106-8111. doi: 10.1073/PNAS.1414728112.
- Fukumoto, K., Iijima, M., & Chaki, S. (2014). Serotonin-1A receptor stimulation mediates effects of a metabotropic glutamate 2/3 receptor antagonist, 2S-2-amino-2-(1S,2S-2-carboxycycloprop-1-yl)-3-(xanth-9-yl)propanoic acid (LY341495), and an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, ketamine, in the novelty-suppressed feeding test. *Psychopharmacology*, *231*, 2291-2298. doi: 10.1007/S00213-013-3378-0.
- Fukumoto, K., Toki, H., Iijima, M., Hashihayata, T., Yamaguchi, J. I., Hashimoto, K., & Chaki, S. (2017). Antidepressant Potential of (R)-Ketamine in Rodent Models: Comparison with (S)-Ketamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *361*, 9-16. doi: 10.1124/JPET.116.239228.
- Furtado, M., & Katzman, M. A. (2015). Examining the role of neuroinflammation in major depression. *Psychiatry Research*, *229*, 27-36. doi: 10.1016/J.PSYCHRES.2015.06.009.
- Fuster, J. (2015). *The Prefrontal Cortex* (5th). Academic Press. doi: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407815-4.00013-1.
- Gabbott, P. L., Warner, T. A., Jays, P. R., Salway, P., & Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of comparative neurology*, *492*, 145-177. doi: 10.1002/CNE.20738.

- Gagne, C., Piot, A., & Brake, W. G. (2021). Depression, Estrogens, and Neuroinflammation: A Preclinical Review of Ketamine Treatment for Mood Disorders in Women. *Frontiers in Psychiatry*, *12*, 797577. DOI: 10.3389/FPSYT.2021.797577.
- Gallagher, M., & Chiba, A. A. (1996). The amygdala and emotion. *Current Opinion in Neurobiology*, *6*, 221-227. DOI: 10.1016/S0959-4388(96)80076-6.
- Galvez, R., Mesches, M. H., & Mcgaugh, J. L. (1996). Norepinephrine Release in the Amygdala in Response to Footshock Stimulation. *Neurobiology of Learning and Memory*, *66*, 253-257. DOI: 10.1006/NLME.1996.0067.
- Gao, N., Wang, H., Xu, X., Yang, Z., & Zhang, T. (2021). Angiotensin II induces cognitive decline and anxiety-like behavior via disturbing pattern of theta-gamma oscillations. *Brain research bulletin*, *174*, 84-91. DOI: 10.1016/J.BRAINRESBULL.2021.06.002.
- Gao, R., Peterson, E. J., & Voytek, B. (2017). Inferring synaptic excitation/inhibition balance from field potentials. *NeuroImage*, *158*, 70-78. DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2017.06.078.
- Gardner, W., Fuchs, F., Durieux, L., Bourgin, P., Coenen, V. A., Döbrössy, M., & Lecourtier, L. (2022). Slow Wave Sleep Deficits in the Flinders Sensitive Line Rodent Model of Depression: Effects of Medial Forebrain Bundle Deep-Brain Stimulation. *Neuroscience*, *498*, 31-49. DOI: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2022.06.023.
- Gartlehner, G., Wagner, G., Matyas, N., Titscher, V., Greimel, J., Lux, L., Gaynes, B. N., Viswanathan, M., Patel, S., & Lohr, K. N. (2017). Pharmacological and non-pharmacological treatments for major depressive disorder: review of systematic reviews. *BMJ Open*, *7*, e014912. DOI: 10.1136/BMJOPEN-2016-014912.
- George, K. K., Kumar, C. S., Ramachandran, K. I., & Panda, A. (2015). Cosine distance features for improved speaker verification. *Electronics Letters*, *51*, 939-941. DOI: 10.1049/EL.2015.0515.
- George, M. S., Ketter, T. A., & Post, R. M. (1994). Prefrontal cortex dysfunction in clinical depression. *Depression*, *2*, 59-72. DOI: 10.1002/DEPR.3050020202.
- Gersner, R., Toth, E., Isserles, M., & Zangen, A. (2010). Site-specific antidepressant effects of repeated subconvulsive electrical stimulation: potential role of brain-derived neurotrophic factor. *Biological psychiatry*, *67*, 125-132. DOI: 10.1016/J.BIOPSYCH.2009.09.015.
- Gesing, A., Bilang-Bleuel, A., Droste, S. K., Linthorst, A. C., Holsboer, F., & Reul, J. M. (2001). Psychological Stress Increases Hippocampal Mineralocorticoid Receptor Levels: Involvement of Corticotropin-Releasing Hormone. *Journal of Neuroscience*, *21*, 4822-4829. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.21-13-04822.2001.
- Ghorashi, S., & Spencer, K. M. (2015). Attentional load effects on beta oscillations in healthy and schizophrenic individuals. *Frontiers in Psychiatry*, *6*, 149. DOI: 10.3389/FPSYT.2015.00149.
- Ghosal, S., Duman, C. H., Liu, R. J., Wu, M., Terwilliger, R., Girenti, M. J., Wohleb, E., Fogaca, M. V., Teichman, E. M., Hare, B., & Duman, R. S. (2020). Ketamine rapidly reverses stress-induced impairments in GABAergic transmission in the prefrontal cortex in male rodents. *Neurobiology of Disease*, *134*, 104669. DOI: 10.1016/J.NBD.2019.104669.
- Ghosal, S., Hare, B. D., & Duman, R. S. (2017). Prefrontal cortex GABAergic deficits and circuit dysfunction in the pathophysiology and treatment of chronic stress and depression. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, *14*, 1-8. DOI: 10.1016/j.cobeha.2016.09.012.
- Gibbons, J. L. (1964). Cortisol Secretion Rate in Depressive Illness. *Archives of General Psychiatry*, *10*, 572-575. DOI: 10.1001 / ARCHPSYC . 1964 . 01720240026004.
- Gibbons, J. L., & McHugh, P. R. (1962). Plasma cortisol in depressive illness. *Journal of Psychiatric Research*, *1*, 162-171. DOI: 10.1016/0022-3956(62)90006-7.
- Gideons, E. S., Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2014). Mechanisms underlying differential effectiveness of memantine and ketamine in rapid antidepressant responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*, 8649-8654. DOI: 10.1073/PNAS.1323920111.
- Gilbert, J. R., & Zarate, C. A. (2020). Electrophysiological biomarkers of antidepressant response to ketamine in treatment-resistant depression: Gamma power and long-term potentiation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *189*, 172856. DOI: 10.1016/J.PBB.2020.172856.
- Gillespie, C. F., & Nemeroff, C. B. (2005). Hypercortisolemia and depression. *Psychosomatic Medicine*, *67*, 26-28. DOI: 10.1097/01.PSY.0000163456.22154.D2.
- Gillin, J. C., Jernajczyk, W., de C. Valladares-Neto, D., Golshan, S., Lardon, M., & Stahl, S. M. (1994). Inhibition of REM sleep by ipsapirone, A 5HT1A agonist, in normal volunteers. *Psychopharmacology*, *116*, 433-436. DOI: 10.1007/BF02247474/METRICS.
- Girardeau, G., & Lopes-Dos-Santos, V. (2021). Brain neural patterns and the memory function of sleep. *Science*, *374*, 560-564. DOI: 10.1126/SCIENCE.ABI8370.
- Golden, C. T., & Chadderton, P. (2022). Psilocybin reduces low frequency oscillatory power and neuronal phase-locking in the anterior cingulate cortex of awake rodents. *Scientific Reports* *2022* *12*:1, *12*, 1-12. DOI: 10.1038/s41598-022-16325-w.
- Goldschmied, J. R., Cheng, P., Armitage, R., & Deldin, P. J. (2014). Examining the effects of sleep delay on depressed males and females and healthy controls. *Journal of sleep research*, *23*, 664-672. DOI: 10.1111/JSR.12174.
- Gómez, F., Lahmame, A., Kloet, R. D., & Armario, A. (1996). Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Response to Chronic Stress in Five Inbred Rat Strains: Differential Responses Are Mainly Located at the Adrenocortical Level. *Neuroendocrinology*, *63*, 327-337. DOI: 10.1159/000126973.
- Gonçalves, L., Silva, R., Pinto-Ribeiro, F., Pêgo, J. M., Bessa, J. M., Pertovaara, A., Sousa, N., & Almeida, A. (2008). Neuropathic pain is associated with depressive behaviour and induces neuroplasticity in the amygdala of the rat. *Experimental Neurology*, *213*, 48-56. DOI: 10.1016/J.EXPNEUROL.2008.04.043.
- Gonzalez-Burgos, G., & Lewis, D. A. (2008). GABA Neurons and the Mechanisms of Network Oscillations: Implications for Understanding Cortical Dys-

- function in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 34, 944-961. doi: 10.1093/SCHBUL/SBN070.
- González-Ramírez, L. R., Ahmed, O. J., Cash, S. S., Wayne, C. E., & Kramer, M. A. (2015). A biologically constrained, mathematical model of cortical wave propagation preceding seizure termination. *PLoS computational biology*, 11. doi: 10.1371/JOURNAL.PCBI.1004065.
- Gotlib, I. H., Krasnoperova, E., Yue, D. N., & Joormann, J. (2004). Attentional biases for negative interpersonal stimuli in clinical depression. *Journal of abnormal psychology*, 113, 127-135. doi: 10.1037/0021-843X.113.1.121.
- Gottschlich, M. M., Mayes, T., Khoury, J., McCall, J., Simakajornboon, N., & Kagan, R. J. (2011). The Effect of Ketamine Administration on Nocturnal Sleep Architecture. *Journal of Burn Care and Research*, 32, 535-540. doi: 10.1097/BCR.0B013E31822AC7D1.
- Gray, J. P., Müller, V. I., Eickhoff, S. B., & Fox, P. T. (2020). Multimodal abnormalities of brain structure and function in major depressive disorder: A meta-analysis of neuroimaging studies. *American Journal of Psychiatry*, 177, 422-434. doi: 10.1176/APPI.AJP.2019.19050560.
- Gray, S. J., Jensen, S. P., & Hurst, J. L. (2000). Structural complexity of territories: preference, use of space and defence in commensal house mice, *Mus domesticus*. *Animal behaviour*, 60, 765-772. doi: 10.1006/ANBE.2000.1527.
- Gray, T. S., Carney, M. E., & Magnuson, D. J. (1989). Direct projections from the central amygdaloid nucleus to the hypothalamic paraventricular nucleus: possible role in stress-induced adrenocorticotropin release. *Neuroendocrinology*, 50, 433-446. doi: 10.1159/000125260.
- Greger, I. H., Watson, J. F., & Cull-Candy, S. G. (2017). Structural and Functional Architecture of AMPA-Type Glutamate Receptors and Their Auxiliary Proteins. *Neuron*, 94, 713-730. doi: 10.1016/J.NEURON.2017.04.009.
- Gregoriou, G. G., Paneri, S., & Sapountzis, P. (2015). Oscillatory synchrony as a mechanism of attentional processing. *Brain research*, 1626, 165-182. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2015.02.004.
- Gregus, A., Wintink, A. J., Davis, A. C., & Kalynchuk, L. E. (2005). Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behavioural brain research*, 156, 105-114. doi: 10.1016/J.BBR.2004.05.013.
- Grent-'t-Jong, T., Rivolta, D., Gross, J., Gajwani, R., Lawrie, S. M., Schwannauer, M., Heidegger, T., Wibrall, M., Singer, W., Sauer, A., Scheller, B., & Uhlhaas, P. J. (2018). Acute ketamine dysregulates task-related gamma-band oscillations in thalamo-cortical circuits in schizophrenia. *Brain*, 141, 2511-2526. doi: 10.1093/BRAIN/AWY175.
- Grunebaum, M. F., Galfalvy, H. C., Choo, T. H., Keilp, J. G., Moitra, V. K., Parris, M. S., Marver, J. E., Burke, A. K., Milak, M. S., Sublette, M. E., Oquendo, M. A., & Mann, J. J. (2018). Ketamine for rapid reduction of suicidal thoughts in major depression: A midazolam-controlled randomized clinical trial. *American Journal of Psychiatry*, 175, 327-335. doi: 10.1176/appi.ajp.2017.17060647.
- Gu, Y., & Stornetta, R. L. (2007). Synaptic plasticity, AMPA-R trafficking, and Ras-MAPK signaling. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28, 928-936. doi: 10.1111/j.1745-7254.2007.00609.x.
- Gu, Z., & Yakel, J. L. (2022). Cholinergic Regulation of Hippocampal Theta Rhythm. *Biomedicines*, 10, 745. doi: 10.3390/BIOMEDICINES10040745.
- Guerrero, A., Franseschi, F. A., Estrada, M. C., Ramos, V. M., Zarracino, R. G., Loría, J. C. Z., Quiroz, A. V. C., Molina, T. A. P. C., & Cárdenas, H. (2014). Fourier transform infrared-attenuated total reflectance (FTIR-ATR) spectroscopy and chemometric techniques for the determination of adulteration in petrodiesel/ biodiesel blends. *Quim. Nova*, 37, 392-397. doi: 10.5935/0100-4042.20140071.
- Guo, W., Nagappan, G., & Lu, B. (2018). Differential effects of transient and sustained activation of BDNF-TrkB signaling. *Developmental Neurobiology*, 78, 647-659. doi: 10.1002/DNEU.22592.
- Haarsma, J., Harmer, C. J., & Tamm, S. (2021). A continuum hypothesis of psychotomimetic rapid antidepressants. <https://doi.org/10.1177/23982128211007772>, 5, 2398212821100777. doi: 10.1177/23982128211007772.
- Haddjeri, N., Blier, P., & Montigny, C. D. (1998). Long-Term Antidepressant Treatments Result in a Tonic Activation of Forebrain 5-HT1A Receptors. *Journal of Neuroscience*, 18, 10150-10156. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-23-10150.1998.
- Hahn, G., Ponce-Alvarez, A., Deco, G., Aertsen, A., & Kumar, A. (2018). Portraits of communication in neuronal networks. *Nature Reviews Neuroscience*, 20, 117-127. doi: 10.1038/s41583-018-0094-0.
- Haines, D. E., & Mihailoff, G. A. (2019). *Principios de Neurociencia* (Elsevier, Ed.). Elsevier.
- Hajos, M., Hoffmann, W. E., Robinson, D. D., Yu, J. H., & Hajós-Korcsok, É. (2002). Norepinephrine but not Serotonin Reuptake Inhibitors Enhance Theta and Gamma Activity of the Septo-Hippocampal System. *Neuropsychopharmacology*, 28, 857-864. doi: 10.1038/sj.npp.1300116.
- Hakami, T., Jones, N. C., Tolmacheva, E. A., Gaudias, J., Chaumont, J., Salzberg, M., O'Brien, T. J., & Pinault, D. (2009). NMDA Receptor Hypofunction Leads to Generalized and Persistent Aberrant Oscillations Independent of Hyperlocomotion and the State of Consciousness. *PLOS ONE*, 4, e6755. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0006755.
- Hamani, C., Amorim, B. O., Wheeler, A. L., Diwan, M., Driesslein, K., Covolan, L., Butson, C. R., & Nobrega, J. N. (2014). Deep brain stimulation in rats: different targets induce similar antidepressant-like effects but influence different circuits. *Neurobiology of disease*, 71, 205-214. doi: 10.1016/J.NBD.2014.08.007.
- Hamani, C., Diwan, M., Isabella, S., Lozano, A. M., & Nobrega, J. N. (2010). Effects of different stimulation parameters on the antidepressant-like response of medial prefrontal cortex deep brain stimulation in rats. *Journal of psychiatric research*, 44, 683-687. doi: 10.1016/J.JPSYCHIRES.2009.12.010.

- Hamani, C., Mayberg, H., Stone, S., Laxton, A., Haber, S., & Lozano, A. M. (2011). The subcallosal cingulate gyrus in the context of major depression. *Biological Psychiatry*, *69*, 301-308. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2010.09.034.
- Hamani, C., & Nobrega, J. N. (2012). Preclinical Studies Modeling Deep Brain Stimulation for Depression. *Biological Psychiatry*, *72*, 916-923. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.05.024.
- Hamilton, J. P., Siemer, M., & Gotlib, I. H. (2008). Amygdala volume in major depressive disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Molecular psychiatry*, *13*, 993-1000. doi: 10.1038/MP.2008.57.
- Han, K. S., Kim, L., & Shim, I. (2012). Stress and Sleep Disorder. *Experimental Neurobiology*, *21*, 141-150. doi: 10.5607/EN.2012.21.4.141.
- Hantouche, E., Angst, J., & Azorin, J. M. (2010). Explained factors of suicide attempts in major depression. *Journal of Affective Disorders*, *127*, 305-308. doi: 10.1016/J.JAD.2010.04.032.
- Hare, B. D., & Duman, R. S. (2020). Prefrontal cortex circuits in depression and anxiety: contribution of discrete neuronal populations and target regions. *Molecular psychiatry*, *25*, 2742-2758. doi: 10.1038/S41380-020-0685-9.
- Harris, J. A., Mihalas, S., Hirokawa, K. E., Whitesell, J. D., Choi, H., Bernard, A., Bohn, P., Caldejon, S., Casal, L., Cho, A., Feiner, A., Feng, D., Gaudreault, N., Gerfen, C. R., Graddis, N., Groblewski, P. A., Henry, A. M., Ho, A., Howard, R., ... Zeng, H. (2019). Hierarchical organization of cortical and thalamic connectivity. *Nature*, *575*, 195-202. doi: 10.1038/s41586-019-1716-z.
- Hartmann, M., Heumann, R., & Lessmann, V. (2001). Synaptic secretion of BDNF after high-frequency stimulation of glutamatergic synapses. *The EMBO Journal*, *20*, 5887-5897. doi: 10.1093/EMBOJ/20.21.5887.
- Hasler, G. (2010). Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? *World Psychiatry*, *9*, 155-161. doi: 10.1002/J.2051-5545.2010.TB00298.X.
- Hatcher, J. P., Bell, D. J., Reed, T. J., & Hagan, J. J. (1997). Chronic mild stress-induced reductions in saccharin intake depend upon feeding status. <http://dx.doi.org/10.1177/026988119701100408>, *11*, 331-338. doi: 10.1177/026988119701100408.
- Hauer, B. E., Pagliardini, S., & Dickson, C. T. (2019). The Reuniens Nucleus of the Thalamus Has an Essential Role in Coordinating Slow-Wave Activity between Neocortex and Hippocampus. *eNeuro*, *6*. doi: 10.1523/ENEURO.0365-19.2019.
- Hauser, M. J., Isbrandt, D., & Roeper, J. (2017). Disturbances of novel object exploration and recognition in a chronic ketamine mouse model of schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, *332*, 316-326. doi: 10.1016/J.BBR.2017.06.013.
- Hay, N., & Sonenberg, N. (2004). Upstream and downstream of mTOR. *Genes and Development*, *18*, 1926-1945. doi: 10.1101/GAD.1212704.
- Hayashi, T. (1952). A physiological study of epileptic seizures following cortical stimulation in animals and its application to human clinics. *The Japanese journal of physiology*, *3*, 46-64. doi: 10.2170/JPHYSIOL.3.46.
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: Evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *27*, 555-579. doi: 10.1016/j.neubiorev.2003.09.003.
- Hein, M., Lanquart, J. P., Loas, G., Hubain, P., & Linkowski, P. (2019). Alterations of neural network organisation during rapid eye movement sleep and slow-wave sleep in major depression: Implications for diagnosis, classification, and treatment. *Psychiatry research. Neuroimaging*, *291*, 71-78. doi: 10.1016/J.PSYCHRESNS.2019.08.003.
- Herauld, J., & Jutten, C. (1986). Space or time adaptive signal processing by neural network models. *AIPC*, *151*, 206-211. doi: 10.1063/1.36258.
- Herkenham, M., & Nauta, W. J. (1979). Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, *187*, 19-47. doi: 10.1002/CNE.901870103.
- Herman, J. P., Adams, D., & Prewitt, C. (1995). Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology*, *61*, 180-190. doi: 10.1159/000126839.
- Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C., & Cullinan, W. E. (2003). Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *24*, 151-180. doi: 10.1016/J.YFRNE.2003.07.001.
- Herman, J. P., McKlveen, J. M., Ghosal, S., Kopp, B., Wulsin, A., Makinson, R., Scheimann, J., & Myers, B. (2016). Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. *Comprehensive Physiology*, *6*, 603-621. doi: 10.1002/CPHY.C150015.
- Herman, J. P., & Mueller, N. K. (2006). Role of the ventral subiculum in stress integration. *Behavioural Brain Research*, *174*, 215-224. doi: 10.1016/J.BBR.2006.05.035.
- Herman, J. P., Nawreen, N., Smail, M. A., & Cotella, E. M. (2020). Brain mechanisms of HPA axis regulation: neurocircuitry and feedback in context. *Stress*, *23*, 617-632. doi: 10.1080/10253890.2020.1859475.
- Herman, J. P., Watson, S. J., & Spencer, R. L. (1999). Defense of Adrenocorticosteroid Receptor Expression in Rat Hippocampus: Effects of Stress and Strain. *Endocrinology*, *140*, 3981-3991. doi: 10.1210/ENDO.140.9.6962.
- Herreras, O., Makarova, J., & Makarov, V. A. (2015). New uses of LFPs: Pathway-specific threads obtained through spatial discrimination. *Neuroscience*, *310*, 486-503. doi: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.09.054.
- Herreras, O. (2016). Local field potentials: Myths and misunderstandings. *Frontiers in Neural Circuits*, *10*, 101. doi: 10.3389/FNCIR.2016.00101.

- Hervás, I., Queiroz, C. M., Adell, A., & Artigas, F. (2000). Role of uptake inhibition and autoreceptor activation in the control of 5-HT release in the frontal cortex and dorsal hippocampus of the rat. *British Journal of Pharmacology*, *130*, 160-166. DOI: 10.1038/SJ.BJP.0703297.
- Hervás, I., Vilaró, M. T., Romero, L., Scorza, M. C., Mengod, G., & Artigas, F. (2001). Desensitization of 5-HT_{1A} Autoreceptors by a Low Chronic Fluoxetine Dose Effect of the Concurrent Administration of WAY-100635. *Neuropsychopharmacology*, *24*, 11-20. DOI: 10.1016/s0893-133x(00)00175-5.
- Herweg, N. A., Solomon, E. A., & Kahana, M. J. (2020). Theta Oscillations in Human Memory. *Trends in Cognitive Sciences*, *24*, 208-227. DOI: 10.1016/J.TICS.2019.12.006.
- Heshmati, M., & Russo, S. J. (2015). Anhedonia and the brain reward circuitry in depression. *Current behavioral neuroscience reports*, *2*, 146. DOI: 10.1007/S40473-015-0044-3.
- Hirano, S. (2012). Western Blot Analysis. En J. Reineke (Ed.), *Nanotoxicity: Methods and Protocols* (pp. 87-97). Humana Press. DOI: 10.1007/978-1-62703-002-1_6.
- Hirano, S., Hirano, Y., Maekawa, T., Obayashi, C., Oribe, N., Kuroki, T., Kanba, S., & Onitsuka, T. (2008). Abnormal Neural Oscillatory Activity to Speech Sounds in Schizophrenia: A Magnetoencephalography Study. *Journal of Neuroscience*, *28*, 4897-4903. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5031-07.2008.
- Hnasko, T. S., & Hnasko, R. M. (2015). The Western Blot. En R. Hnasko (Ed.), *ELISA: Methods and Protocols* (pp. 87-96). Springer New York. DOI: 10.1007/978-1-4939-2742-5_9.
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiology*, *117*, 500-544. DOI: 10.1113/JPHYSIOL.1952.SP004764.
- Hof, P. R. (2000). *Comparative cytoarchitectonic atlas of the C57BL/6 and 129/Sv mouse brains*. Elsevier.
- Hoffmann, R., Hendrickse, W., Rush, A. J., & Armitage, R. (2000). Slow-wave activity during non-REM sleep in men with schizophrenia and major depressive disorders. *Psychiatry research*, *95*, 215-225. DOI: 10.1016/S0165-1781(00)00181-5.
- Høifødt, R. S., Waterloo, K., Wang, C. E., Eisemann, M., Figenschau, Y., & Halvorsen, M. (2019). Cortisol levels and cognitive profile in major depression: A comparison of currently and previously depressed patients. *Psychoneuroendocrinology*, *99*, 57-65. DOI: 10.1016/J.PSYNEUEN.2018.08.024.
- Holdcroft, A. (2007). Integrating the Dimensions of Sex and Gender into Basic Life Sciences Research: Methodologic and Ethical Issues. *Gender Medicine*, *4*, S64-S74. DOI: 10.1016/S1550-8579(07)80048-9.
- Holmes, S. E., Scheinost, D., Finnema, S. J., Naganawa, M., Davis, M. T., DellaGioia, N., Nabulsi, N., Matuskey, D., Angarita, G. A., Pietrzak, R. H., Duman, R. S., Sanacora, G., Krystal, J. H., Carson, R. E., & Esterlis, I. (2019). Lower synaptic density is associated with depression severity and network alterations. *Nature Communications*, *10*, 1-10. DOI: 10.1038/s41467-019-09562-7.
- Holsboer, F. (2000). The Corticosteroid Receptor Hypothesis of Depression. *Neuropsychopharmacology* *23:5*, *23*, 477-501. DOI: 10.1016/s0893-133x(00)00159-7.
- Homayoun, H., & Moghaddam, B. (2007). NMDA Receptor Hypofunction Produces Opposite Effects on Prefrontal Cortex Interneurons and Pyramidal Neurons. *Journal of Neuroscience*, *27*, 11496-11500. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2213-07.2007.
- Hong, L. E., Summerfelt, A., Buchanan, R. W., O'Donnell, P., Thaker, G. K., Weiler, M. A., & Lahti, A. C. (2009). Gamma and Delta Neural Oscillations and Association with Clinical Symptoms under Subanesthetic Ketamine. *Neuropsychopharmacology*, *35*, 632-640. DOI: 10.1038/npp.2009.168.
- Hou, Y., Zhang, H., Xie, G., Cao, X., Zhao, Y. N., Liu, Y., Mao, Z., Yang, J., & Wu, C. (2013). Neuronal injury, but not microglia activation, is associated with ketamine-induced experimental schizophrenic model in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *45*, 107-116. DOI: 10.1016/J.PNPBP.2013.04.006.
- Huang, Y. H., & Bergles, D. E. (2004). Glutamate transporters bring competition to the synapse. *Current Opinion in Neurobiology*, *14*, 346-352. DOI: 10.1016/J.CONB.2004.05.007.
- Huang, Y., Sun, B., Debarros, J., Zhang, C., Zhan, S., Li, D., Zhang, C., Wang, T., Huang, P., Lai, Y., Brown, P., Cao, C., & Tan, H. (2021). Increased theta/alpha synchrony in the habenula-prefrontal network with negative emotional stimuli in human patients. *eLife*, *10*, e65444. DOI: 10.7554/ELIFE.65444.
- Huber, R., Tononi, G., & Cirelli, C. (2007). Exploratory Behavior, Cortical BDNF Expression, and Sleep Homeostasis. *Sleep*, *30*, 129-139. DOI: 10.1093/SLEEP/30.2.129.
- Hughes, R. N. (2007). Neotic preferences in laboratory rodents: issues, assessment and substrates. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *31*, 441-464. DOI: 10.1016/J.NEUBIOREV.2006.11.004.
- Humo, M., Ayazgök, B., Becker, L. J., Waltisperger, E., Rantamäki, T., & Yalcin, I. (2020). Ketamine induces rapid and sustained antidepressant-like effects in chronic pain induced depression: Role of MAPK signaling pathway. *Progress in neuropsychopharmacology and biological psychiatry*, *100*. DOI: 10.1016/J.PNPBP.2020.109898.
- Hunt, M. J., Raynaud, B., & Garcia, R. (2006). Ketamine Dose-Dependently Induces High-Frequency Oscillations in the Nucleus Accumbens in Freely Moving Rats. *Biological Psychiatry*, *60*, 1206-1214. DOI: 10.1016/j.biopsych.2006.01.020.
- Hunter, A. M., Korb, A. S., Cook, I. A., & Leuchter, A. F. (2013). Rostral anterior cingulate activity in major depressive disorder: State or trait marker of responsiveness to medication? *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, *25*, 126-133. DOI: 10.1176/APPI.NEUROPSYCH.11110330.
- Hurley, K., Herbert, H., Moga, M. M., & Saper, C. B. (1991). Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology*, *308*, 249-276. DOI: 10.1002/CNE.903080210.
- Hurley, L. L., & Tizabi, Y. (2012). Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Depression. *Neurotoxicity*

- Research*, 23, 131-144. DOI: 10.1007/S12640-012-9348-1.
- Hutka, P., Krivosova, M., Muchova, Z., Tonhajzerova, I., Hamrakova, A., Mlynckova, Z., Mokry, J., & Ondrejka, I. (2021). Association of Sleep Architecture and Physiology with Depressive Disorder and Antidepressants Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 1333. DOI: 10.3390/IJMS22031333.
- IHME. (2019). *Global Burden of Disease*.
- Impey, S., Obrietan, K., & Storm, D. R. (1999). Making new connections: Role of ERK/MAP kinase signaling in neuronal plasticity. *Neuron*, 23, 11-14. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80747-3.
- Ince, R. A. (2017). Measuring Multivariate Redundant Information with Pointwise Common Change in Surprisal. *Entropy*, 19, 318. DOI: 10.3390/E19070318.
- Invernizzi, R., Belli, S., & Samanin, R. (1992). Citalopram's ability to increase the extracellular concentrations of serotonin in the dorsal raphe prevents the drug's effect in the frontal cortex. *Brain Research*, 584, 322-324. DOI: 10.1016/0006-8993(92)90914-U.
- *Ioannou, M., Wartenberg, C., Greenbrook, J. T., Larson, T., Magnusson, K., Schmitz, L., Sjögren, P., Stadig, I., Szabó, Z., & Steingrimsson, S. (2021). Sleep deprivation as treatment for depression: Systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 143, 22-35. DOI: 10.1111/ACPS.13253.
- Ishii, R., Shinosaki, K., Ukai, S., Inouye, T., Ishihara, T., Yoshimine, T., Hirabuki, N., Asada, H., Kihara, T., Robinson, S. E., & Takeda, M. (1999). Medial prefrontal cortex generates frontal midline theta rhythm. *Neuroreport*, 10, 675-679. DOI: 10.1097/00001756-199903170-00003.
- Islam, O., Loo, T., & Heese, K. (2009). Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) has Proliferative Effects on Neural Stem Cells through the Truncated TRK-B Receptor, MAP Kinase, AKT, and STAT-3 Signaling Pathways. *Current Neurovascular Research*, 6, 42-53. DOI: 10.2174/156720209787466028.
- Izquierdo, I., Furini, C. R., & Myskiw, J. C. (2016). Fear memory. *Physiological Reviews*, 96, 695-750. DOI: 10.1152/PHYSREV.00018.2015.
- Jacinto, L. R., Reis, J. S., Dias, N. S., Cerqueira, J. J., Correia, J. H., & Sousa, N. (2013). Stress affects theta activity in limbic networks and impairs novelty-induced exploration and familiarization. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7, 127. DOI: 10.3389/FNBEH.2013.00127/ABSTRACT.
- Jacobs, B. L., Praag, H. V., & Gage, F. H. (2000). Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Molecular Psychiatry*, 5, 262-269. DOI: 10.1038/sj.mp.4000712.
- Jacobs, B. L. (1986). Single unit activity of locus coeruleus neurons in behaving animals. *Progress in Neurobiology*, 27, 183-194. DOI: 10.1016/0301-0082(86)90008-0.
- Jacobs, J. (2014). Hippocampal theta oscillations are slower in humans than in rodents: implications for models of spatial navigation and memory. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 369. DOI: 10.1098/RSTB.2013.0304.
- Jacobson, L., & Sapolsky, R. (1991). The Role of the Hippocampus in Feedback Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Axis. *Endocrine Reviews*, 12, 118-134. DOI: 10.1210/EDRV-12-2-118.
- Jafari, Z., Kolb, B. E., & Mohajerani, M. H. (2020). Neural oscillations and brain stimulation in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*, 194, 101878. DOI: 10.1016/J.PNEUROBIO.2020.101878.
- James, G., Witten, D., Hastie, T., & Tibshirani, R. (2013). *An Introduction to Statistical Learning*. Springer US. DOI: 10.1007/978-1-0716-1418-1.
- Jaworska, N., Blier, P., Fusee, W., & Knott, V. (2012). Alpha power, alpha asymmetry and anterior cingulate cortex activity in depressed males and females. *Journal of Psychiatric Research*, 46, 1483-1491. DOI: 10.1016/J.JPSYCHIRES.2012.08.003.
- Jaworska, N., Yücel, K., Courtright, A., Macmaster, F. P., Sembo, M., & Macqueen, G. (2016). Subgenual anterior cingulate cortex and hippocampal volumes in depressed youth: The role of comorbidity and age. *Journal of Affective Disorders*, 190, 726-732. DOI: 10.1016/J.JAD.2015.10.064.
- Jaworski, J., Spangler, S., Seeburg, D. P., Hoogenraad, C. C., & Sheng, M. (2005). Control of Dendritic Arborization by the Phosphoinositide-3-Kinase-Akt-Mammalian Target of Rapamycin Pathway. *Journal of Neuroscience*, 25, 11300-11312. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2270-05.2005.
- Jay, T. M., & Witter, M. P. (1991). Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology*, 313, 574-586. DOI: 10.1002/CNE.903130404.
- Jeevakumar, V., Driskill, C., Paine, A., Sobhanian, M., Vakil, H., Morris, B., Ramos, J., & Kroener, S. (2015). Ketamine administration during the second postnatal week induces enduring schizophrenia-like behavioral symptoms and reduces parvalbumin expression in the medial prefrontal cortex of adult mice. *Behavioural Brain Research*, 282, 165-175. DOI: 10.1016/J.BBR.2015.01.010.
- Jelen, L. A., & Stone, J. M. (2021). Ketamine for depression. *International review of psychiatry*, 33, 207-228. DOI: 10.1080/09540261.2020.1854194.
- Ji, Y., Lu, Y., Yang, F., Shen, W., Tang, T. T. T., Feng, L., Duan, S., & Lu, B. (2010). Acute and gradual increases in BDNF concentration elicit distinct signaling and functions in neurons. *Nature Neuroscience*, 13, 302-309. DOI: 10.1038/nn.2505.
- Jia, L., Sun, Z., Shi, D., Wang, M., Jia, J., He, Y., Xue, F., Ren, Y., Yang, J., & Ma, X. (2019). Effects of different patterns of electric stimulation of the ventromedial prefrontal cortex on hippocampal-prefrontal coherence in a rat model of depression. *Behavioural Brain Research*, 356, 179-188. DOI: 10.1016/J.BBR.2018.08.032.
- Jiménez-Sánchez, L., Castañé, A., Pérez-Caballero, L., Grifoll-Escoda, M., López-Gil, X., Campa, L., Galofré, M., Berrocoso, E., & Adell, A. (2016). Activation of AMPA Receptors Mediates the Antidepressant Action of Deep Brain Stimulation of the Infralimbic

- Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, 26, 2778-2789. doi: 10.1093/CERCOR/BHV133.
- Jindal, R. D., Friedman, E. S., Berman, S. R., Fasiczka, A. L., Howland, R. H., & Thase, M. E. (2003). Effects of Sertraline on Sleep Architecture in Patients with Depression. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 23, 540-548. doi: 10.1097/01.JCP.0000095345.32154.9A.
- Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 459-466. doi: 10.1038/nrn2632.
- Johnson, R. A., & Wichern, D. W. (2007). *Applied Multivariate Statistical Analysis* (6th). Pearson.
- Jolliffe, I. T., & Cadima, J. (2016). Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 374. doi: 10.1098/RSTA.2015.0202.
- Jones, N. C., Anderson, P., Rind, G., Sullivan, C., Buuse, M. V. D., & O'Brien, T. J. (2014). Effects of aberrant gamma frequency oscillations on prepulse inhibition. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17, 1671-1681. doi: 10.1017/S1461145714000492.
- Jung, F., & Carlén, M. (2021). Neuronal oscillations and the mouse prefrontal cortex. *International Review of Neurobiology*, 158, 337-372. doi: 10.1016/BS.IRN.2020.11.005.
- Jung, T. P., Makeig, S., Humphries, C., Lee, T. W., McKeown, M. J., Iragui, V., & Sejnowski, T. J. (2000). Removing electroencephalographic artifacts by blind source separation. *Psychophysiology*, 37, 163-178. doi: 10.1017/S0048577200980259.
- Kadriu, B., Ballard, E. D., Henter, I. D., Murata, S., Gerlus, N., & Zarate, C. A. (2020). Neurobiological biomarkers of response to ketamine. *Advances in Pharmacology*, 89, 195-235. doi: 10.1016/BS.APHA.2020.05.003.
- Kaesermann, H. P. (1986). Stretched attend posture, a non-social form of ambivalence, is sensitive to a conflict-reducing drug action. *Psychopharmacology*, 89, 31-37. doi: 10.1007/BF00175185.
- Kalueff, A. V., & Nutt, D. J. (2007). Role of GABA in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, 24, 495-517. doi: 10.1002/DA.20262.
- Kamigaki, T. (2019). Prefrontal circuit organization for executive control. *Neuroscience research*, 140, 23-36. doi: 10.1016/J.NEURES.2018.08.017.
- Kang, H. J., Voleti, B., Hajszan, T., Rajkowska, G., Stockmeier, C. A., Licznernski, P., Lepack, A., Majik, M. S., Jeong, L. S., Banasr, M., Son, H., & Duman, R. S. (2012). Decreased expression of synapse-related genes and loss of synapses in major depressive disorder. *Nature Medicine*, 18, 1413-1417. doi: 10.1038/nm.2886.
- Kara, N. Z., Agam, G., Anderson, G. W., Zitron, N., & Einat, H. (2017). Lack of effect of chronic ketamine administration on depression-like behavior and frontal cortex autophagy in female and male ICR mice. *Behavioural Brain Research*, 317, 576-580. doi: 10.1016/J.BBR.2016.09.056.
- Karakaş, S. (2020). A review of theta oscillation and its functional correlates. *International Journal of Psychophysiology*, 157, 82-99. doi: 10.1016/J.IJPSYCHO.2020.04.008.
- Kashdan, T. B., & Rottenberg, J. (2010). Psychological flexibility as a fundamental aspect of health [Positive Clinical Psychology]. *Clinical Psychology Review*, 30(7), 865-878. doi: https://doi.org/10.1016/j.cpr.2010.03.001.
- Kassambara, A. (2023). *rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests* [R package version 0.7.2].
- Kavalali, E. T., Chung, C. H., Khvotchev, M., Leitz, J., Nosyreva, E., Raingo, J., & Ramirez, D. M. (2011). Spontaneous neurotransmission: An independent pathway for neuronal signaling? *Physiology*, 26, 45-53. doi: 10.1152/PHYSIOL.00040.2010.
- Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2015). How does ketamine elicit a rapid antidepressant response? *Current opinion in pharmacology*, 20, 35-39. doi: 10.1016/J.COPH.2014.11.005.
- Kay, D. B., Dombrowski, A. Y., Buysse, D. J., Reynolds, C. F., Begley, A., & Szanto, K. (2016). Insomnia is associated with suicide attempt in middle-aged and older adults with depression. *International Psychogeriatrics*, 28, 613-619. doi: 10.1017/S104161021500174X.
- Kekesi, G., Petrovszki, Z., Benedek, G., & Horvath, G. (2015). Sex-specific alterations in behavioral and cognitive functions in a "three hit" animal model of schizophrenia. *Behavioural brain research*, 284, 85-93. doi: 10.1016/J.BBR.2015.02.015.
- Keller, J., Gomez, R., Williams, G., Lembke, A., Lazzeroni, L., Murphy, G. M., & Schatzberg, A. F. (2016). HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. *Molecular Psychiatry*, 22, 527-536. doi: 10.1038/mp.2016.120.
- Kemmotsu, N., Kucukboyaci, N. E., Cheng, C. E., Girard, H. M., Tecoma, E. S., Iragui, V. J., & McDonald, C. R. (2013). Alterations in functional connectivity between the hippocampus and prefrontal cortex as a correlate of depressive symptoms in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy and behavior*, 29, 552-559. doi: 10.1016/J.YEBEH.2013.09.039.
- Kenney, J. W., Moore, C. E., Wang, X., & Proud, C. G. (2014). Eukaryotic elongation factor 2 kinase, an unusual enzyme with multiple roles. *Advances in Biological Regulation*, 55, 15-27. doi: https://doi.org/10.1016/j.jbior.2014.04.003.
- Kersanté, F., Purple, R. J., & Jones, M. W. (2022). The GABAA receptor modulator zolpidem augments hippocampal-prefrontal coupling during non-REM sleep. *Neuropsychopharmacology*, 48, 594-604. doi: 10.1038/s41386-022-01355-9.
- Keshavan, M. S., Reynolds, C. F., Miewald, J. M., Montrose, D. M., Sweeney, J. A., Vasko, R. C., & Kupfer, D. J. (1998). Delta sleep deficits in schizophrenia: evidence from automated analyses of sleep data. *Archives of general psychiatry*, 55, 443-448. doi: 10.1001/ARCHPSYC.55.5.443.
- Kessler, R. C., Gruber, M., Hettema, J. M., Hwang, I., Sampson, N., & Yonkers, K. A. (2008). Co-morbid major depression and generalized anxiety disorders in the National Comorbidity Survey follow-up. *Psychological Medicine*, 38, 365-374. doi: 10.1017/S0033291707002012.

- Khairuddin, S., Ngo, F. Y., Lim, W. L., Aquili, L., Khan, N. A., Fung, M. L., Chan, Y. S., Temel, Y., & Lim, L. W. (2020). A Decade of Progress in Deep Brain Stimulation of the Subcallosal Cingulate for the Treatment of Depression. *Journal of Clinical Medicine*, *9*, 3260. doi: 10.3390/JCM9103260.
- Khalighi, S., Sousa, T., Pires, G., & Nunes, U. (2013). Automatic sleep staging: A computer assisted approach for optimal combination of features and polysomnographic channels. *Expert Systems with Applications*, *40*, 7046-7059. doi: 10.1016/J.ESWA.2013.06.023.
- Kherad-Pajouh, S., & Renaud, O. (2014). A general permutation approach for analyzing repeated measures ANOVA and mixed-model designs. *Statistical Papers*, *56*, 947-967. doi: 10.1007/S00362-014-0617-3.
- Khodayari-Rostamabad, A., Reilly, J. P., Hasey, G. M., de Bruin, H., & MacCrimmon, D. J. (2013). A machine learning approach using EEG data to predict response to SSRI treatment for major depressive disorder. *Clinical Neurophysiology*, *124*, 1975-1985. doi: 10.1016/J.CLINPH.2013.04.010.
- Kidder, G. M., & McLachlin, J. R. (1985). Timing of transcription and protein synthesis underlying morphogenesis in preimplantation mouse embryos. *Developmental Biology*, *112*, 265-275. doi: 10.1016/0012-1606(85)90397-5.
- Kim, C. S., Brager, D. H., & Johnston, D. (2017). Perisomatic changes in h-channels regulate depressive behaviors following chronic unpredictable stress. *Molecular Psychiatry* *2018* *23:4*, *23*, 892-903. doi: 10.1038/mp.2017.28.
- Kim, C. S., & Johnston, D. (2018). A Possible Link Between HCN Channels and Depression. *Chronic Stress*, *2*. doi: 10.1177/2470547018787781.
- Kim, C. S., & Johnston, D. (2020). Antidepressant Effects of (S)-Ketamine through a Reduction of Hyperpolarization-Activated Current Ih. *iScience*, *23*. doi: 10.1016/j.isci.2020.101239.
- Kim, J. W., Autry, A. E., Na, E. S., Adachi, M., Björkholm, C., Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2021). Sustained effects of rapidly acting antidepressants require BDNF-dependent MeCP2 phosphorylation. *Nature Neuroscience*, *24*, 1100-1109. doi: 10.1038/s41593-021-00868-8.
- Kim, J., Suzuki, K., Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2023). Bridging rapid and sustained antidepressant effects of ketamine. *Trends in Molecular Medicine*, *29*, 364-375. doi: 10.1016/J.MOLMED.2023.02.003.
- Kim, J. H., Marton, J., Ametamey, S. M., & Cumming, P. (2020). A Review of Molecular Imaging of Glutamate Receptors. *Molecules*, *25*, 4749. doi: 10.3390/MOLECULES25204749.
- Kimura, M., Müller-Preuss, P., Lu, A., Wiesner, E., Flachs-kamm, C., Wurst, W., Holsboer, F., & Deussing, J. M. (2009). Conditional corticotropin-releasing hormone overexpression in the mouse forebrain enhances rapid eye movement sleep. *Molecular Psychiatry*, *15*, 154-165. doi: 10.1038/mp.2009.46.
- Kircanski, K., Joormann, J., & Gotlib, I. H. (2012). Cognitive aspects of depression. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, *3*, 301-313. doi: 10.1002/WCS.1177.
- Kisely, S., Li, A., Warren, N., & Siskind, D. (2018). A systematic review and meta-analysis of deep brain stimulation for depression. *Depression and Anxiety*, *35*, 468-480. doi: 10.1002/DA.22746.
- Kittelberger, K., Hur, E. E., Sazegar, S., Keshavan, V., & Kocsis, B. (2012). Comparison of the effects of acute and chronic administration of ketamine on hippocampal oscillations: Relevance for the NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. *Brain Structure and Function*, *217*, 395-409. doi: 10.1007/S00429-011-0351-8/METRICS.
- Klimesch, W., Schimke, H., & Schwaiger, J. (1994). Episodic and semantic memory: an analysis in the EEG theta and alpha band. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *91*, 428-441. doi: 10.1016/0013-4694(94)90164-3.
- Klinkenberg, I., & Blokland, A. (2010). The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *34*, 1307-1350. doi: 10.1016/J.NEUBIOREV.2010.04.001.
- Klinzing, J. G., Niethard, N., & Born, J. (2019). Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. *Nature Neuroscience*, *22*, 1743-1744. doi: 10.1038/S41593-019-0507-Z.
- Kloet, E. R. D., Joëls, M., & Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *6*, 463-475. doi: 10.1038/nrn1683.
- Klüver, H., & Bucy, P. C. (1937). Psychic blindness and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in Rhesus monkeys. | Semantic Scholar. *American Journal of Physiology*, *119*, 352-353.
- Knott, V., Mahoney, C., Kennedy, S., & Evans, K. (2000). Pre-treatment EEG and it's relationship to depression severity and paroxetine treatment outcome. *Pharmacopsychiatry*, *33*, 201-205. doi: 10.1055/S-2000-8356/ID/31.
- Koenigs, M., & Grafman, J. (2009). The functional neuro-anatomy of depression: Distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, *201*, 239-243. doi: 10.1016/J.BBR.2009.03.004.
- Koenigs, M., Huey, E. D., Calamia, M., Raymond, V., Tranel, D., & Grafman, J. (2008). Distinct Regions of Prefrontal Cortex Mediate Resistance and Vulnerability to Depression. *Journal of Neuroscience*, *28*, 12341-12348. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2324-08.2008.
- Köhler, S., Ashton, C. H., Marsh, R., Thomas, A. J., Barnett, N. A., & O'Brien, J. T. (2011). Electrophysiological changes in late life depression and their relation to structural brain changes. *International Psychogeriatrics*, *23*, 141-148. doi: 10.1017/S1041610210001250.
- Kohtala, S., Alitalo, O., Rosenholm, M., Rozov, S., & Rantamäki, T. (2021). Time is of the essence: Coupling sleep-wake and circadian neurobiology to the antidepressant effects of ketamine. *Pharmacology and therapeutics*, *221*. doi: 10.1016/J.PHARMTHERA.2020.107741.
- Kohtala, S., Theilmann, W., Rosenholm, M., Penna, L., Karabulut, G., Uusitalo, S., Järventausta, K., Yli-

- Hankala, A., Yalcin, I., Matsui, N., Wigren, H. K., & Rantamäki, T. (2019). Cortical Excitability and Activation of TrkB Signaling During Rebound Slow Oscillations Are Critical for Rapid Antidepressant Responses. *Molecular Neurobiology*, *56*, 4163-4174. doi: 10.1007/S12035-018-1364-6.
- Koike, H., & Chaki, S. (2014). Requirement of AMPA receptor stimulation for the sustained antidepressant activity of ketamine and LY341495 during the forced swim test in rats. *Behavioural Brain Research*, *271*, 111-115. doi: 10.1016/J.BBR.2014.05.065.
- Koike, H., Iijima, M., & Chaki, S. (2011). Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression. *Behavioural Brain Research*, *224*, 107-111. doi: 10.1016/J.BBR.2011.05.035.
- Komsta, L. (2022). *outliers: Tests for Outliers* [R package version 0.7.2].
- Komulainen, E., Glerean, E., Heikkilä, R., Nummenmaa, L., Raij, T. T., Isometsä, E., & Ekelund, J. (2021). Escitalopram enhances synchrony of brain responses during emotional narratives in patients with major depressive disorder. *NeuroImage*, *237*, 118110. doi: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2021.118110.
- Koninck, P. D., & Schulman, H. (1998). Sensitivity of CaM Kinase II to the Frequency of Ca²⁺ Oscillations. *Science*, *279*, 227-230. doi: 10.1126/SCIENCE.279.5348.227.
- Koo, J. W., Chaudhury, D., Han, M. H., & Nestler, E. J. (2019). Role of Mesolimbic Brain-Derived Neurotrophic Factor in Depression. *Biological Psychiatry*, *86*, 738-748. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2019.05.020.
- Koolschijn, P. C. M., Haren, N. E. V., Lensvelt-Mulders, G. J., Pol, H. E. H., & Kahn, R. S. (2009). Brain volume abnormalities in major depressive disorder: A meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Human Brain Mapping*, *30*, 3719-3735. doi: 10.1002/HBM.20801.
- Kooy, D. V. D., McGinty, J. F., Koda, L. Y., Gerfen, C. R., & Bloom, F. E. (1982). Visceral cortex: a direct connection from prefrontal cortex to the solitary nucleus in rat. *Neuroscience letters*, *33*, 123-127. doi: 10.1016/0304-3940(82)90238-5.
- Korb, A. S., Hunter, A. M., Cook, I. A., & Leuchter, A. F. (2009). Rostral anterior cingulate cortex theta current density and response to antidepressants and placebo in major depression. *Clinical Neurophysiology*, *120*, 1313-1319. doi: 10.1016/J.CLINPH.2009.05.008.
- Korb, A. S., Hunter, A. M., Cook, I. A., & Leuchter, A. F. (2011). Rostral anterior cingulate cortex activity and early symptom improvement during treatment for major depressive disorder. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, *192*, 188-194. doi: 10.1016/J.PSYCHRESNS.2010.12.007.
- Kos, T., Popik, P., Pietraszek, M., Schäfer, D., Danysz, W., Dravolina, O., Blokhina, E., Galankin, T., & Bespalov, A. Y. (2006). Effect of 5-HT₃ receptor antagonist MDL 72222 on behaviors induced by ketamine in rats and mice. *European Neuropsychopharmacology*, *16*, 297-310. doi: 10.1016/J.EURONEURO.2005.10.001.
- Kragh, M., Martiny, K., Videbeck, P., Møller, D. N., Wihlborg, C. S., Lindhardt, T., & Larsen, E. R. (2017). Wake and light therapy for moderate-to-severe depression – a randomized controlled trial. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *136*, 559-570. doi: 10.1111/ACPS.12741.
- Krakauer, J. W., Ghazanfar, A. A., Gomez-Marin, A., MacIver, M. A., & Poeppel, D. (2017). Neuroscience Needs Behavior: Correcting a Reductionist Bias. *Neuron*, *93*, 480-490. doi: 10.1016/J.NEURON.2016.12.041.
- Kramer, M., & Font, E. (2017). Reducing sample size in experiments with animals: historical controls and related strategies. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *92*, 431-445. doi: 10.1111/BRV.12237.
- Kramis, R., Vanderwolf, C. H., & Bland, B. H. (1975). Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat: Relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane, and pentobarbital. *Experimental Neurology*, *49*, 58-85. doi: 10.1016/0014-4886(75)90195-8.
- Kraskov, A., Stögbauer, H., & Grassberger, P. (2004). Estimating mutual information. *Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, *69*, 16. doi: 10.1103/PHYSREVE.69.066138.
- Krauss, J. K., Lipsman, N., Aziz, T., Boutet, A., Brown, P., Chang, J. W., Davidson, B., Grill, W. M., Hariz, M. I., Horn, A., Schuder, M., Mammis, A., Tass, P. A., Volkmann, J., & Lozano, A. M. (2020). Technology of deep brain stimulation: current status and future directions. *Nature Reviews Neurology*, *17*, 75-87. doi: 10.1038/s41582-020-00426-z.
- Krishnan, G. P., Vohs, J. L., Hetrick, W. P., Carroll, C. A., Shekhar, A., Bockbrader, M. A., & O'Donnell, B. F. (2005). Steady state visual evoked potential abnormalities in schizophrenia. *Clinical Neurophysiology*, *116*, 614-624. doi: 10.1016/J.CLINPH.2004.09.016.
- Krishnan, V., & Nestler, E. J. (2008). The molecular neurobiology of depression. *Nature*, *455*, 894-902. doi: 10.1038/nature07455.
- Kristensen, A. S., Jenkins, M. A., Banke, T. G., Schousboe, A., Makino, Y., Johnson, R. C., Haganir, R., & Traynelis, S. F. (2011). Mechanism of Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II regulation of AMPA receptor gating. *Nature Neuroscience*, *14*, 727-735. doi: 10.1038/nn.2804.
- Krystal, J. H., Sanacora, G., Blumberg, H., Anand, A., Charney, D. S., Marek, G., Epperson, C. N., Goddard, A., & Mason, G. F. (2002). Glutamate and GABA systems as targets for novel antidepressant and mood-stabilizing treatments. *Molecular Psychiatry*, *7*, S71-S80. doi: 10.1038/sj.mp.4001021.
- Krystal, J. H., Karper, L. P., Seibyl, J. P., Freeman, G. K., Delaney, R., Bremner, J. D., Heninger, G. R., Bowers, M. B., & Charney, D. S. (1994). Subanesthetic Effects of the Noncompetitive NMDA Antagonist, Ketamine, in Humans: Psychotomimetic, Perceptual, Cognitive, and Neuroendocrine Responses. *Archives of General Psychiatry*, *51*, 199-214. doi: 10.1001/ARCHPSYC.1994.03950030035004.
- Kujala, J., Jung, J., Bouvard, S., Lecaigard, F., Lothe, A., Bouet, R., Ciomas, C., Ryvlin, P., & Jerbi, K. (2015). Gamma oscillations in V1 are correlated with GABAA receptor density: A multi-modal MEG and

- Flumazenil-PET study. *Scientific Reports*, 5, 1-12. doi: 10.1038/srep16347.
- Kulkarni, S. K., Singh, K., & Bishnoi, M. (2007). Elevated zero maze: a paradigm to evaluate anti-anxiety effects of drugs. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 29, 343-348. doi: 10.1358/MF.2007.29.5.1117557.
- Kullback, S., & Leibler, R. A. (1951). On Information and Sufficiency. *The annals of mathematical statistics*, 22, 79-86. doi: 10.1214/AOMS/1177729694.
- Kupfer, D. J. (1978). Application of EEG sleep for the differential diagnosis and treatment of affective disorders. *Pharmakopsychiatrie und Neuropsychopharmakologie*, 11, 17-26. doi: 10.1055/s-0028-1094559.
- Kupfer, D. J. (1995). Sleep research in depressive illness: Clinical implications - a tasting menu. *Biological Psychiatry*, 38, 391-403. doi: 10.1016/0006-3223(94)00295-E.
- Kupfer, D. J., Frank, E., Mceachran, A. B., & Grochocinski, V. J. (1990). Delta Sleep Ratio: A Biological Correlate of Early Recurrence in Unipolar Affective Disorder. *Archives of General Psychiatry*, 47, 1100-1105. doi: 10.1001/ARCHPSYC.1990.01810240020004.
- Kurylo, D. D., & Gazes, Y. (2008). Effects of Ketamine on perceptual grouping in rats. *Physiology and Behavior*, 95, 152-156. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2008.05.012.
- Lachaux, J., Rodriguez, E., Martinerie, J., & Varela, F. J. (1999). Measuring Phase Synchrony in Brain Signals. *Hum Brain Mapping*, 8, 194-208. doi: 10.1002/(SICI)1097-0193(1999)8:4.
- Lader, M., Cardinali, D. P., & Pandi-Perumal, S. R. (2010). *Sleep and sleep disorders: A neuropsychopharmacological approach (2^a)*. Springer US. doi: 10.1007/0-387-27682-3/COVER.
- Lahti, A. C., Weiler, M. A., Michaelidis, T., Parwani, A., & Tamminga, C. A. (2001). Effects of Ketamine in Normal and Schizophrenic Volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 25, 455-467. doi: 10.1016/s0893-133x(01)00243-3.
- Lai, C. C., Lee, L. J., & Yin, H. S. (2013). Combinational effects of ketamine and amphetamine on behaviors and neurotransmitter systems of mice. *NeuroToxicology*, 37, 136-143. doi: 10.1016/J.NEURO.2013.04.014.
- Laje, G., Lally, N., Mathews, D., Brutsche, N., Chermerski, A., Akula, N., Kelmendi, B., Simen, A., McMahon, F. J., Sanacora, G., & Zarate, C. (2012). Brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and antidepressant efficacy of ketamine in depressed patients. *Biological Psychiatry*, 72, e27-e28. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.05.031.
- Lally, N., Nugent, A. C., Luckenbaugh, D. A., Ameli, R., Roiser, J. P., & Zarate, C. A. (2014). Anti-anhedonic effect of ketamine and its neural correlates in treatment-resistant bipolar depression. *Translational Psychiatry*, 4, e469-e469. doi: 10.1038/tp.2014.105.
- LaLumiere, R. T. (2014). Optogenetic dissection of amygdala functioning. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8, 107. doi: 10.3389/FNBEH.2014.00107.
- Landolt, H. P., Raimo, E. B., Schnierow, B. J., Kelsoe, J. R., Rapaport, M. H., & Gillin, J. C. (2001). Sleep and Sleep Electroencephalogram in Depressed Patients Treated With Phenelzine. *Archives of General Psychiatry*, 58, 268-276. doi: 10.1001/ARCHPSYC.58.3.268.
- Lapidus, K. A., Levitch, C. F., Perez, A. M., Brallier, J. W., Parides, M. K., Soleimani, L., Feder, A., Iosifescu, D. V., Charney, D. S., & Murrough, J. W. (2014). A randomized controlled trial of intranasal ketamine in major depressive disorder. *Biological Psychiatry*, 76, 970-976. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.03.026.
- Laubach, M., Amarante, L. M., Swanson, K., & White, S. R. (2018). What, If Anything, Is Rodent Prefrontal Cortex? *eNeuro*, 5, 315-333. doi: 10.1523/ENEURO.0315-18.2018.
- Lawson, R. P., Nord, C. L., Seymour, B., Thomas, D. L., Dayan, P., Pilling, S., & Roiser, J. P. (2016). Disrupted habenula function in major depression. *Molecular Psychiatry*, 22, 202-208. doi: 10.1038/mp.2016.81.
- Lawson, R. P., Seymour, B., Loh, E., Lutti, A., Dolan, R. J., Dayan, P., Weiskopf, N., & Roiser, J. P. (2014). The habenula encodes negative motivational value associated with primary punishment in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111, 11858-11863. doi: 10.1073/PNAS.1323586111.
- Lazarewicz, M. T., Ehrlichman, R. S., Maxwell, C. R., Gandal, M. J., Finkel, L. H., & Siegel, S. J. (2010). Ketamine Modulates Theta and Gamma Oscillations. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22, 1452-1464. doi: 10.1162/JOCN.2009.21305.
- Le Merre, P., Åhrlund-Richter, S., & Carlén, M. (2021). The mouse prefrontal cortex: Unity in diversity. *Neuron*, 109, 1925-1944. doi: 10.1016/J.NEURON.2021.03.035.
- Leal, G. C., Bandeira, I. D., Correia-Melo, F. S., Telles, M., Mello, R. P., Vieira, F., Lima, C. S., Jesus-Nunes, A. P., Guerreiro-Costa, L. N., Marback, R. F., Caliman-Fontes, A. T., Marques, B. L., Bezerra, M. L., Dias-Neto, A. L., Silva, S. S., Sampaio, A. S., Sanacora, G., Turecki, G., Loo, C., ... Quarantini, L. C. (2021). Intravenous arketamine for treatment-resistant depression: open-label pilot study. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 271, 577-582. doi: 10.1007/S00406-020-01110-5/METRICS.
- LeDoux, J. (2003). The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23, 727-738. doi: 10.1023/A:1025048802629.
- LeDoux, J. (2007). The amygdala. *Current Biology*, 17, R868-R874. doi: 10.1016/j.cub.2007.08.005.
- Lee, H. S., Ghetti, A., Pinto-Duarte, A., Wang, X., Dzieczapolski, G., Galimi, F., Huitron-Resendiz, S., Piñacrespo, J. C., Roberts, A. J., Verma, I. M., Sejnowski, T. J., & Heinemann, S. F. (2014). Astrocytes contribute to gamma oscillations and recognition memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111, E3343-E3352. doi: 10.1073/PNAS.1410893111.
- Lee, P. S., Chen, Y. S., Hsieh, J. C., Su, T. P., & Chen, L. F. (2010). Distinct neuronal oscillatory responses between patients with bipolar and unipolar disorders: A magnetoencephalographic study. *Journal*

- of *Affective Disorders*, 123, 270-275. doi: 10.1016/J.JAD.2009.08.020.
- Lee, T. H., Kim, M., Hwang, W. J., Kim, T., Kwak, Y. B., & Kwon, J. S. (2020). Relationship between resting-state theta phase-gamma amplitude coupling and neurocognitive functioning in patients with first-episode psychosis. *Schizophrenia Research*, 216, 154-160. doi: 10.1016/J.SCHRES.2019.12.010.
- Lein, E. S., Hawrylycz, M. J., Ao, N., Ayres, M., Bensinger, A., Bernard, A., Boe, A. F., Boguski, M. S., Brockway, K. S., Byrnes, E. J., Chen, L., Chen, L., Chen, T. M., Chin, M. C., Chong, J., Crook, B. E., Czaplinska, A., Dang, C. N., Datta, S., ... Jones, A. R. (2007). Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature*, 445, 168-176. doi: 10.1038/NATURE05453.
- Leistedt, S. J., & Linkowski, P. (2013). Brain, networks, depression, and more. *European Neuropsychopharmacology*, 23, 55-62. doi: 10.1016/J.EURONEURO.2012.10.011.
- Lener, M. S., Niciu, M. J., Ballard, E. D., Park, M., Park, L. T., Nugent, A. C., & Zarate, C. A. (2017). Glutamate and Gamma-Aminobutyric Acid Systems in the Pathophysiology of Major Depression and Antidepressant Response to Ketamine. *Biological Psychiatry*, 81, 886-897. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2016.05.005.
- Lepack, A. E., Bang, E., Lee, B., Dwyer, J. M., & Duman, R. S. (2016). Fast-acting antidepressants rapidly stimulate ERK signaling and BDNF release in primary neuronal cultures. *Neuropharmacology*, 111, 242-252. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2016.09.011.
- Lesch, K. P., & Waider, J. (2012). Serotonin in the modulation of neural plasticity and networks: implications for neurodevelopmental disorders. *Neuron*, 76, 175-191. doi: 10.1016/J.NEURON.2012.09.013.
- Lever, J., Krzywinski, M., & Altman, N. (2017). Points of Significance: Principal component analysis. *Nature Methods*, 14, 641-642. doi: 10.1038/NMETH.4346.
- Levine, J., Barak, Y., Chengappa, K. N., Rapoport, A., Rebey, M., & Barak, V. (1999). Cerebrospinal Cytokine Levels in Patients with Acute Depression. *Neuropsychobiology*, 40, 171-176. doi: 10.1159/000026615.
- Levy, R., Hutchison, W. D., Lozano, A. M., & Dostrovsky, J. O. (2000). High-frequency Synchronization of Neuronal Activity in the Subthalamic Nucleus of Parkinsonian Patients with Limb Tremor. *Journal of Neuroscience*, 20, 7766-7775. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-20-07766.2000.
- Lewis, D. A., Hashimoto, T., & Volk, D. W. (2005). Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*, 6, 312-324. doi: 10.1038/nrn1648.
- Li, B., Piriz, J., Mirrione, M., Chung, C., Proulx, C. D., Schulz, D., Henn, F., & Malinow, R. (2011). Synaptic potentiation onto habenula neurons in the learned helplessness model of depression. *Nature*, 470, 535-541. doi: 10.1038/NATURE09742.
- Li, C. T., Chen, M. H., Lin, W. C., Hong, C. J., Yang, B. H., Liu, R. S., Tu, P. C., & Su, T. P. (2016). The effects of low-dose ketamine on the prefrontal cortex and amygdala in treatment-resistant depression: A randomized controlled study. *Human brain mapping*, 37, 1080-1090. doi: 10.1002/HBM.23085.
- Li, K., Zhou, T., Liao, L., Yang, Z., Wong, C., Henn, F., Malinow, R., Yates, J. R., & Hu, H. (2013). CaMKII in lateral habenula mediates core symptoms of depression. *Science*, 341, 1016-1020. doi: 10.1126/SCIENCE.1240729.
- Li, L., & Vlisides, P. E. (2016). Ketamine: 50 Years of Modulating the Mind. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10. doi: 10.3389/FNHUM.2016.00612.
- Li, N., Lee, B., Liu, R. J., Banasr, M., Dwyer, J. M., Iwata, M., Li, X. Y., Aghajanian, G., & Duman, R. S. (2010). mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science*, 329, 959-964. doi: 10.1126/SCIENCE.1190287.
- Li, N., Liu, R. J., Dwyer, J. M., Banasr, M., Lee, B., Son, H., Li, X. Y., Aghajanian, G., & Duman, R. S. (2011). Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure. *Biological Psychiatry*, 69, 754-761. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.12.015.
- Li, X., Peng, Z., Jiang, L., Zhang, P., Yang, P., Yuan, Z., & Cheng, J. (2023). Dlg1 deletion in microglia ameliorates chronic restraint stress induced mice depression-like behavior. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 416. doi: 10.3389/FPHAR.2023.1124845.
- Li, Y., Wang, Y., Xuan, C., Li, Y., Piao, L., Li, J., & Zhao, H. (2017). Role of the lateral habenula in pain-associated depression. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 31. doi: 10.3389/FNBEH.2017.00031.
- Liddle, E. B., Price, D., Palaniyappan, L., Brookes, M. J., Robson, S. E., Hall, E. L., Morris, P. G., & Liddle, P. F. (2016). Abnormal salience signaling in schizophrenia: The role of integrative beta oscillations. *Human Brain Mapping*, 37, 1361-1374. doi: 10.1002/HBM.23107.
- Likhtik, E., Stujenske, J. M., Topiwala, M. A., Harris, A. Z., & Gordon, J. A. (2014). Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nature neuroscience*, 17, 106-113. doi: 10.1038/NN.3582.
- Liljus, T. O., Jokinen, V., Neuvonen, M. S., Niemi, M., Kalso, E. A., & Rauhala, P. V. (2015). Ketamine coadministration attenuates morphine tolerance and leads to increased brain concentrations of both drugs in the rat. *British Journal of Pharmacology*, 172, 2799-2813. doi: 10.1111/BPH.12974.
- Lim, L. W., Prickaerts, J., Huguet, G., Kadar, E., Hartung, H., Sharp, T., & Temel, Y. (2015). Electrical stimulation alleviates depressive-like behaviors of rats: investigation of brain targets and potential mechanisms. *Translational Psychiatry*, 5, e535. doi: 10.1038/TP.2015.24.
- Lin, J. C., Chan, M. H., Lee, M. Y., Chen, Y. C., & Chen, H. H. (2016). N,N-dimethylglycine differentially modulates psychotomimetic and antidepressant-like effects of ketamine in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 71, 7-13. doi: 10.1016/J.PNPBP.2016.06.002.
- Lin, J. C., Lee, M. Y., Chan, M. H., Chen, Y. C., & Chen, H. H. (2016). Betaine enhances antidepressant-like, but blocks psychotomimetic effects of ketamine in mice. *Psychopharmacology*, 233, 3223-3235. doi: 10.1007/S00213-016-4359-X.

- Lin, L., Herselman, M. F., Zhou, X. F., & Bobrovskaya, L. (2022). Effects of corticosterone on BDNF expression and mood behaviours in mice. *Physiology and Behavior*, *247*, 113721. doi: [10.1016/J.PHYSBEH.2022.113721](https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2022.113721).
- Lin, P. Y., Ma, Z. Z., Mahgoub, M., Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2021). A synaptic locus for TrkB signaling underlying ketamine rapid antidepressant action. *Cell Reports*, *36*, 109513. doi: [10.1016/J.CELREP.2021.109513](https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2021.109513).
- Linkowski, P., Mendlewicz, J., Kerkhofs, M., Leclercq, R., Golstein, J., Brasseur, M., Copinschi, G., & Cauter, E. V. (1987). 24-Hour Profiles of Adrenocorticotropin, Cortisol, and Growth Hormone in Major Depressive Illness: Effect of Antidepressant Treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *65*, 141-152. doi: [10.1210/JCEM-65-1-141](https://doi.org/10.1210/JCEM-65-1-141).
- Lipsman, N., Kaping, D., Westendorff, S., Sankar, T., Lozano, A. M., & Womelsdorf, T. (2014). Beta coherence within human ventromedial prefrontal cortex precedes affective value choices. *NeuroImage*, *85*, 769-778. doi: [10.1016/J.NEUROIMAGE.2013.05.104](https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2013.05.104).
- Lipton, J. O., & Sahin, M. (2014). The Neurology of mTOR. *Neuron*, *84*, 275-291. doi: [10.1016/J.NEURON.2014.09.034](https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2014.09.034).
- Lisman, J. (1989). A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *86*, 9574-9578. doi: [10.1073/PNAS.86.23.9574](https://doi.org/10.1073/PNAS.86.23.9574).
- Lisman, J., Yasuda, R., & Raghavachari, S. (2012). Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*, 169-182. doi: [10.1038/nrn3192](https://doi.org/10.1038/nrn3192).
- Littner, M., Hirshkowitz, M., Kramer, M., Kapen, S., Anderson, W. M., Bailey, D., Berry, R. B., Davila, D., Johnson, S., Kushida, C., Loubé, D. I., Wise, M., & Woodson, B. T. (2003). Practice Parameters for Using Polysomnography to Evaluate Insomnia: An Update. *Sleep*, *26*, 754-760. doi: [10.1093/SLEEP/26.6.754](https://doi.org/10.1093/SLEEP/26.6.754).
- Liu, A. A., Henin, S., Abbaspoor, S., Bragin, A., Buffalo, E. A., Farrell, J. S., Foster, D. J., Frank, L. M., Gendankien, T., Gotman, J., Guidera, J. A., Hoffman, K. L., Jacobs, J., Kahana, M. J., Li, L., Liao, Z., Lin, J. J., Losonczy, A., Malach, R., ... Buzsáki, G. (2022). A consensus statement on detection of hippocampal sharp wave ripples and differentiation from other fast oscillations. *Nature Communications*, *13*, 1-14. doi: [10.1038/s41467-022-33536-x](https://doi.org/10.1038/s41467-022-33536-x).
- Liu, J., Ji, X. Q., & Zhu, X. Z. (2006). Comparison of psychic emergence reactions after (±)-ketamine and (+)-ketamine in mice. *Life Sciences*, *78*, 1839-1844. doi: [10.1016/J.LFS.2005.08.027](https://doi.org/10.1016/J.LFS.2005.08.027).
- Liu, M. Y., Yin, C. Y., Zhu, L. J., Zhu, X. H., Xu, C., Luo, C. X., Chen, H., Zhu, D. Y., & Zhou, Q. G. (2018). Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature protocols*, *13*, 1686-1698. doi: [10.1038/S41596-018-0011-Z](https://doi.org/10.1038/S41596-018-0011-Z).
- Liu, R. J., Duman, C., Kato, T., Hare, B., Lopresto, D., Bang, E., Burgdorf, J., Moskal, J., Taylor, J., Aghajanian, G., & Duman, R. S. (2017). GLYX-13 Produces Rapid Antidepressant Responses with Key Synaptic and Behavioral Effects Distinct from Ketamine. *Neuropsychopharmacology*, *42*, 1231. doi: [10.1038/NPP.2016.202](https://doi.org/10.1038/NPP.2016.202).
- Liu, T. Y., Chen, Y. S., Su, T. P., Hsieh, J. C., & Chen, L. F. (2014). Abnormal early gamma responses to emotional faces differentiate unipolar from bipolar disorder patients. *BioMed Research International*, *2014*. doi: [10.1155/2014/906104](https://doi.org/10.1155/2014/906104).
- Liu, W. X., Wang, J., Xie, Z. M., Xu, N., Zhang, G. F., Jia, M., Zhou, Z. Q., Hashimoto, K., & Yang, J. J. (2016). Regulation of glutamate transporter 1 via BDNF-TrkB signaling plays a role in the anti-apoptotic and antidepressant effects of ketamine in chronic unpredictable stress model of depression. *Psychopharmacology*, *233*, 405-415. doi: [10.1007/S00213-015-4128-2/METRICS](https://doi.org/10.1007/S00213-015-4128-2/METRICS).
- Liu, Y., Liang, X. S., & Weisberg, R. H. (2007). Rectification of the Bias in the Wavelet Power Spectrum. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, *24*, 2093-2102. doi: [10.1175/2007JTECH0511.1](https://doi.org/10.1175/2007JTECH0511.1).
- Londen, L. V., Goekoop, J. G., Zwinderman, A. H., Lanser, J. B., Wiegant, V. M., & Wied, D. D. (1998). Neuropsychological performance and plasma cortisol, arginine vasopressin and oxytocin in patients with major depression. *Psychological Medicine*, *28*, 275-284. doi: [10.1017/S0033291797006284](https://doi.org/10.1017/S0033291797006284).
- Lopatina, O., Yoshihara, T., Nishimura, T., Zhong, J., Akther, S., Fakhrol, A. A., Liang, M., Higashida, C., Sumi, K., Furuhashi, K., Inahata, Y., Huang, J. J., Koizumi, K., Yokoyama, S., Tsuji, T., Petugina, Y., Sumarokov, A., Salmina, A. B., Hashida, K., ... Higashida, H. (2014). Anxiety- and depression-like behavior in mice lacking the CD157/BST1 gene, a risk factor for Parkinson's disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*, 133. doi: [10.3389/FNBEH.2014.00133](https://doi.org/10.3389/FNBEH.2014.00133).
- Lopes-dos-Santos, V., van de Ven, G. M., Morley, A., Trouche, S., Campo-Urriza, N., & Dupret, D. (2018). Parsing Hippocampal Theta Oscillations by Nested Spectral Components during Spatial Exploration and Memory-Guided Behavior. *Neuron*, *100*, 940-952.e7. doi: [10.1016/J.NEURON.2018.09.031](https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2018.09.031).
- Lopez, J. P., Kos, A., & Turecki, G. (2018). Major depression and its treatment: MicroRNAs as peripheral biomarkers of diagnosis and treatment response. *Current Opinion in Psychiatry*, *31*, 7-16. doi: [10.1097/YCO.0000000000000379](https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000379).
- López, J. F., Chalmers, D. T., Little, K. Y., & Watson, S. J. (1998). Regulation of serotonin(1A), glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: Implications for the neurobiology of depression. *Biological Psychiatry*, *43*, 547-573. doi: [10.1016/S0006-3223\(97\)00484-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(97)00484-8).
- López-Madróna, V. J., & Canals, S. (2021). Functional Interactions between Entorhinal Cortical Pathways Modulate Theta Activity in the Hippocampus. *Biology*, *10*, 692. doi: [10.3390/BIOLOGY10080692](https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10080692).
- López-Madróna, V. J., Pérez-Montoyo, E., Álvarez-Salvado, E., Moratal, D., Herreras, O., Pereda, E., Mirasso, C. R., & Canals, S. (2020). Different theta frameworks coexist in the rat hippocampus and are coordinated during memory-guided and novelty tasks. *eLife*, *9*, 1-35. doi: [10.7554/ELIFE.57313](https://doi.org/10.7554/ELIFE.57313).
- Lotankar, S., Prabhavalkar, K. S., & Bhatt, L. K. (2017). Biomarkers for Parkinson's Disease: Recent Advan-

- cement. *Neuroscience Bulletin*, 33, 585-597. DOI: 10.1007/S12264-017-0183-5.
- Lozano, A. M., Mayberg, H. S., Giacobbe, P., Hamani, C., Craddock, R. C., & Kennedy, S. H. (2008). Subcallosal Cingulate Gyrus Deep Brain Stimulation for Treatment-Resistant Depression. *Biological Psychiatry*, 64, 461-467. DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.05.034.
- Lu, J., Sherman, D., Devor, M., & Saper, C. B. (2006). A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature* 2006 441:7093, 441, 589-594. DOI: 10.1038/nature04767.
- Lubenov, E. V., & Siapas, A. G. (2009). Hippocampal theta oscillations are travelling waves. *Nature*, 459, 534-539. DOI: 10.1038/nature08010.
- Lucassen, P. J., Pruessner, J., Sousa, N., Almeida, O. F., Dam, A. M. V., Rajkowska, G., Swaab, D. F., & Czéh, B. (2014). Neuropathology of stress. *Acta Neuropathologica*, 127, 109-135. DOI: 10.1007/S00401-013-1223-5.
- Lucki, I. (1997). The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behavioural pharmacology*, 8, 523-532. DOI: 10.1097/00008877-199711000-00010.
- Lueptow, L. M. (2017). Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 2017, e55718. DOI: 10.3791/55718.
- Luo, L., Liu, X. L., Li, J., Mu, R. H., Liu, Q., Yi, L. T., & Geng, D. (2015). Macranthol promotes hippocampal neuronal proliferation in mice via BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling pathway. *European journal of pharmacology*, 762, 357-363. DOI: 10.1016/J.EJPHAR.2015.05.036.
- Lydic, R., & Baghdoyan, H. A. (2002). Ketamine and MK-801 Decrease Acetylcholine Release in the Pontine Reticular Formation, Slow Breathing, and Disrupt Sleep. *Sleep*, 25, 615-620. DOI: 10.1093/SLEEP/25.6.615.
- Ma, L., Skoblenick, K., Johnston, K., & Everling, S. (2018). Ketamine Alters Lateral Prefrontal Oscillations in a Rule-Based Working Memory Task. *Journal of Neuroscience*, 38, 2482-2494. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2659-17.2018.
- Maes, M. (1995). Evidence for an immune response in major depression: A review and hypothesis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 19, 11-38. DOI: 10.1016/0278-5846(94)00101-M.
- Mahdavi, A., Qin, Y., Aubry, A. S., Cornec, D., Kulikova, S., & Pinault, D. (2020). A single psychotomimetic dose of ketamine decreases thalamocortical spindles and delta oscillations in the sedated rat. *Schizophrenia Research*, 222, 362-374. DOI: 10.1016/J.SCHRES.2020.04.029.
- Makarov, V. A., Makarova, J., & Herreras, O. (2010). Disentangling of local field potential sources by independent component analysis. *Journal of computational neuroscience*, 29, 445-457. DOI: 10.1007/S10827-009-0206-Y.
- Makeig, S., Jung, T., Bell, A. J., Ghahremani, D., & Sejnowski, T. J. (1997). Blind separation of auditory event-related brain responses into independent components. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 10979-10984. DOI: 10.1073/PNAS.94.20.10979.
- Makeig, S., Jung, T., Bell, A. J., & Sejnowski, T. J. (1995). Independent Component Analysis of Electroencephalographic Data. *Advances in neural information processing systems*, 8, 145-151.
- Makino, H., & Malinow, R. (2009). AMPA Receptor Incorporation into Synapses during LTP: The Role of Lateral Movement and Exocytosis. *Neuron*, 64, 381-390. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.08.035.
- Makino, S., Gold, P. W., & Schulkin, J. (1994a). Corticosterone effects on corticotropin-releasing hormone mRNA in the central nucleus of the amygdala and the parvocellular region of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Research*, 640, 105-112. DOI: 10.1016/0006-8993(94)91862-7.
- Makino, S., Gold, P. W., & Schulkin, J. (1994b). Effects of corticosterone on CRH mRNA and content in the bed nucleus of the stria terminalis; comparison with the effects in the central nucleus of the amygdala and the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Research*, 657, 141-149. DOI: 10.1016/0006-8993(94)90961-X.
- Maletic, V., Robinson, M., Oakes, T., Iyengar, S., Ball, S. G., & Russell, J. (2007). Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. *International Journal of Clinical Practice*, 61, 2030-2040. DOI: 10.1111/J.1742-1241.2007.01602.X.
- Malhi, G. S., & Mann, J. J. (2018). Depression. *The Lancet*, 392, 2299-2312. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31948-2.
- Malik, R., Li, Y., Schamiloglu, S., & Sohal, V. S. (2022). Top-down control of hippocampal signal-to-noise by prefrontal long-range inhibition. *Cell*, 185, 1602-1617.e17. DOI: 10.1016/J.CELL.2022.04.001.
- Malinow, R., & Malenka, R. C. (2003). AMPA Receptor Trafficking and Synaptic Plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 103-126. DOI: 10.1146/ANNUREV.NEURO.25.112701.142758.
- Manduca, J. D., Thériault, R. K., Williams, O. O., Rasmussen, D. J., & Perreault, M. L. (2020). Transient Dose-dependent Effects of Ketamine on Neuronal Oscillatory Activity in Wistar-Kyoto Rats. *Neuroscience*, 441, 161-175. DOI: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2020.05.012.
- Mantzavinos, V., & Alexiou, A. (2017). Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Current Alzheimer Research*, 14. DOI: 10.2174/1567205014666170203125942.
- Marcantoni, W. S., Akoumba, B. S., Wassef, M., Mayrand, J., Lai, H., Richard-Devantoy, S., & Beauchamp, S. (2020). A systematic review and meta-analysis of the efficacy of intravenous ketamine infusion for treatment resistant depression: January 2009 – January 2019. *Journal of Affective Disorders*, 277, 831-841. DOI: 10.1016/J.JAD.2020.09.007.
- Markov, D. D. (2022). Sucrose Preference Test as a Measure of Anhedonic Behavior in a Chronic Unpredictable Mild Stress Model of Depression: Outstanding Issues. *Brain Sciences* 2022, Vol. 12, Page 1287, 12, 1287. DOI: 10.3390/BRAINSCI12101287.

- Marques, D. B., Ruggiero, R. N., Bueno-Junior, L. S., Rosignoli, M. T., & Leite, J. P. (2022). Prediction of Learned Resistance or Helplessness by Hippocampal-Prefrontal Cortical Network Activity during Stress. *Journal of Neuroscience*, *42*, 81-96. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0128-21.2021.
- Martín-Blanco, A., Serra-Blasco, M., Pérez-Egea, R., Diego-Adeliño, J. D., Carceller-Sindreu, M., Puigdemont, D., Molet, J., Álvarez, E., Pérez, V., & Portella, M. J. (2015). Immediate cerebral metabolic changes induced by discontinuation of deep brain stimulation of subcallosal cingulate gyrus in treatment-resistant depression. *Journal of affective disorders*, *173*, 159-162. DOI: 10.1016/J.JAD.2014.10.035.
- Martínez-García, F., Novejarque, A., & Lanuza, E. (2007). Evolution of the Amygdala in Vertebrates. *Evolution of Nervous Systems*, *2*, 255-334. DOI: 10.1016/B0-12-370878-8/00139-7.
- Martínez-García, F., Novejarque, A., Gutiérrez-Castellanos, N., & Lanuza, E. (2012). *Piriform Cortex and Amygdala*. DOI: 10.1016/B978-0-12-369497-3.10006-8.
- Martinowich, K., Manji, H., & Lu, B. (2007). New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature Neuroscience*, *10*, 1089-1093. DOI: 10.1038/nn1971.
- Martín-Vázquez, G., Makarova, J., Makarov, V. A., & Herreras, O. (2013). Determining the True Polarity and Amplitude of Synaptic Currents Underlying Gamma Oscillations of Local Field Potentials. *PLOS ONE*, *8*, e75499. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0075499.
- Martiny, K., Refsgaard, E., Lund, V., Lunde, M., Thougard, B., Lindberg, L., & Bech, P. (2015). Maintained superiority of chronotherapeutics vs. exercise in a 20-week randomized follow-up trial in major depression. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *131*, 446-457. DOI: 10.1111/ACPS.12402.
- Massimini, M., Huber, R., Ferrarelli, F., Hill, S., & Tononi, G. (2004). The Sleep Slow Oscillation as a Traveling Wave. *Journal of Neuroscience*, *24*, 6862-6870. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1318-04.2004.
- Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K. M., Abe, T., Murthy, V. N., Mathis, M. W., & Bethge, M. (2018). DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nature neuroscience*, *21*, 1281-1289. DOI: 10.1038/S41593-018-0209-Y.
- Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2007). Lateral habenula as a source of negative reward signals in dopamine neurons. *Nature*, *447*, 1111-1115. DOI: 10.1038/nature05860.
- Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2008). Representation of negative motivational value in the primate lateral habenula. *Nature Neuroscience*, *12*, 77-84. DOI: 10.1038/nn.2233.
- Mayberg, H. S. (2003). Positron emission tomography imaging in depression: a neural systems perspective. *Neuroimaging Clinics of North America*, *13*, 805-815. DOI: 10.1016/S1052-5149(03)00104-7.
- Mayberg, H. S., Brannan, S. K., Tekell, J. L., Silva, J. A., Mahurin, R. K., McGinnis, S., & Jerabek, P. A. (2000). Regional metabolic effects of fluoxetine in major depression: serial changes and relationship to clinical response. *Biological Psychiatry*, *48*, 830-843. DOI: 10.1016/S0006-3223(00)01036-2.
- Mayberg, H. S., Liotti, M., Brannan, S. K., McGinnis, S., Mahurin, R. K., Jerabek, P. A., Silva, J. A., Tekell, J. L., Martin, C. C., Lancaster, J. L., & Fox, P. T. (1999). Reciprocal limbic-cortical function and negative mood: converging PET findings in depression and normal sadness. *The American journal of psychiatry*, *156*, 245-253. DOI: 10.1176/AJP.156.5.675.
- Mayberg, H. S., Lozano, A. M., Voon, V., McNeely, H. E., Seminowicz, D., Hamani, C., Schwab, J. M., & Kennedy, S. H. (2005). Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron*, *45*, 651-660. DOI: 10.1016/j.neuron.2005.02.014.
- McBain, C. J., & Fisahn, A. (2001). Interneurons unbound. *Nature Reviews Neuroscience*, *2*, 11-23. DOI: 10.1038/35049047.
- McDermott, J. H. (2009). The cocktail party problem. *Current Biology*, *19*, 1024-1027. DOI: 10.1016/j.cub.2009.09.005.
- McDevitt, E. A., Alaynick, W. A., & Mednick, S. C. (2012). The effect of nap frequency on daytime sleep architecture. *Physiology and behavior*, *107*, 40-44. DOI: 10.1016/J.PHYSBEH.2012.05.021.
- McDonald, A. J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology*, *55*, 257-332. DOI: 10.1016/S0301-0082(98)00003-3.
- McDonald, A. J., Shammah-Lagnado, S. J., Shi, C., & Davis, M. (1999). Cortical Afferents to the Extended Amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *877*, 309-338. DOI: 10.1111/J.1749-6632.1999.TB09275.X.
- McEwen, B. S. (2000). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain research*, *886*, 172-189. DOI: 10.1016/S0006-8993(00)02950-4.
- McGinty, D. J., & Harper, R. M. (1976). Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats. *Brain Research*, *101*, 569-575. DOI: 10.1016/0006-8993(76)90480-7.
- McInerney, S. J., McNeely, H. E., Geraci, J., Giacobbe, P., Rizvi, S. J., Ceniti, A. K., Cyriac, A., Mayberg, H. S., Lozano, A. M., & Kennedy, S. H. (2017). Neurocognitive predictors of response in treatment resistant depression to subcallosal cingulate gyrus deep brain stimulation. *Frontiers in Human Neuroscience*, *11*, 74. DOI: 10.3389/FNHUM.2017.00074.
- McIntyre, R. S., Rosenblat, J. D., Nemeroff, C. B., Sanacora, G., Murrrough, J. W., Berk, M., Brietzke, E., Dodd, S., Gorwood, P., Ho, R., Iosifescu, D. V., Jaramillo, C. L., Kasper, S., Kratiuk, K., Lee, J. G., Lee, Y., Lui, L. M., Mansur, R. B., Papakostas, G. I., ... Stahl, S. (2021). Synthesizing the Evidence for Ketamine and Esketamine in Treatment-Resistant Depression: An International Expert Opinion on the Available Evidence and Implementation. *The American journal of psychiatry*, *178*, 383-399. DOI: 10.1176/APPI.AJP.2020.20081251.
- McKinnon, M. C., Yucel, K., Nazarov, A., & MacQueen, G. M. (2009). A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *Journal of Psychiatry Neuroscience: JPN*, *34*, 41.
- McKlveen, J. M., Myers, B., & Herman, J. P. (2015). The Medial Prefrontal Cortex: Coordinator of Autonomic, Neuroendocrine and Behavioural Responses to

- Stress. *Journal of Neuroendocrinology*, *27*, 446-456. doi: 10.1111/JNE.12272.
- Medina, A., Seasholtz, A. F., Sharma, V., Burke, S., Bunney, W., Myers, R. M., Schatzberg, A., Akil, H., & Watson, S. J. (2013). Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor expression in the human hippocampus in major depressive disorder. *Journal of Psychiatric Research*, *47*, 307-314. doi: 10.1016/J.JPSYCHIRES.2012.11.002.
- Medina, A. B., Lechuga, D. Y. A., Escandón, O. S., & Moctezuma, J. V. (2014). Update of sleep alterations in depression. *Sleep Science*, *7*, 165-169. doi: 10.1016/J.SLSCI.2014.09.015.
- Meldrum, B. S. (2000). Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain: Review of Physiology and Pathology. *The Journal of Nutrition*, *130*, 1007S-1015S. doi: 10.1093/JN/130.4.1007S.
- Méndez, P., Pazienti, A., Szabó, G., & Bacci, A. (2012). Direct Alteration of a Specific Inhibitory Circuit of the Hippocampus by Antidepressants. *Journal of Neuroscience*, *32*, 16616-16628. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1720-12.2012.
- Mendrek, A., & Fattore, L. (2017). Sex differences in drug-induced psychosis. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, *13*, 152-157. doi: 10.1016/J.COBEHA.2016.11.019.
- Merino, E., Raya-Salom, D., Teruel-Martí, V., Adell, A., Cervera-Ferri, A., & Martínez-Ricós, J. (2021). Effects of Acute Stress on the Oscillatory Activity of the Hippocampus-Amygdala-Prefrontal Cortex Network. *Neuroscience*, *476*, 72-89. doi: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2021.09.009.
- Meuwese, J. D., Loon, A. M. V., Scholte, H. S., Lirk, P. B., Vulink, N. C., Hollmann, M. W., & Lamme, V. A. (2013). NMDA Receptor Antagonist Ketamine Impairs Feature Integration in Visual Perception. *PLOS ONE*, *8*, e79326. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0079326.
- Meyer, J. H., Ginovart, N., Boovariwala, A., Sagrati, S., Hussey, D., Garcia, A., Young, T., Praschak-Rieder, N., Wilson, A. A., & Houle, S. (2006). Elevated Monoamine Oxidase A Levels in the Brain: An Explanation for the Monoamine Imbalance of Major Depression. *Archives of General Psychiatry*, *63*, 1209-1216. doi: 10.1001/ARCHPSYC.63.11.1209.
- Meyer, J. H., Wilson, A. A., Sagrati, S., Miler, L., Rusjan, P., Bloomfield, P. M., Clark, M., Sacher, J., Voineskos, A. N., & Houle, S. (2009). Brain Monoamine Oxidase A Binding in Major Depressive Disorder: Relationship to Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Treatment, Recovery, and Recurrence. *Archives of General Psychiatry*, *66*, 1304-1312. doi: 10.1001/ARCHGENPSYCHIATRY.2009.156.
- Michaels, T. I., Long, L. L., Stevenson, I. H., Chrobak, J. J., & Chen, C.-M. A. (2018). Effects of chronic ketamine on hippocampal cross-frequency coupling: implications for schizophrenia pathophysiology. *European Journal of Neuroscience*, *48*, 2903-2914. doi: 10.1111/EJN.13822.
- Miklós, I. H., & Kovács, K. J. (2002). GABAergic innervation of corticotropin-releasing hormone (CRH)-secreting parvocellular neurons and its plasticity as demonstrated by quantitative immunoelectron microscopy. *Neuroscience*, *113*, 581-592. doi: 10.1016/S0306-4522(02)00147-1.
- Millan, M. J., Agid, Y., Brüne, M., Bullmore, E. T., Carter, C. S., Clayton, N. S., Connor, R., Davis, S., Deakin, B., Derubeis, R. J., Dubois, B., Geyer, M. A., Goodwin, G. M., Gorwood, P., Jay, T. M., Joëls, M., Mansuy, I. M., Meyer-Lindenberg, A., Murphy, D., ... Young, L. J. (2012). Cognitive dysfunction in psychiatric disorders: characteristics, causes and the quest for improved therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, *11*, 141-168. doi: 10.1038/nrd3628.
- Miller, E. K., & Cohen, J. D. (2003). An Integrative Theory of Prefrontal Cortex Function. *Annual review of neuroscience*, *24*, 167-202. doi: 10.1146/ANNUREV.NEURO.24.1.167.
- Miller, O. H., Moran, J. T., & Hall, B. J. (2016). Two cellular hypotheses explaining the initiation of ketamine's antidepressant actions: Direct inhibition and disinhibition. *Neuropharmacology*, *100*, 17-26. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2015.07.028.
- Mion, G., & Villevieille, T. (2013). Ketamine Pharmacology: An Update (Pharmacodynamics and Molecular Aspects, Recent Findings). *CNS Neuroscience and Therapeutics*, *19*, 370-380. doi: 10.1111/CNS.12099.
- Mizumori, S. J., Barnes, C. A., & McNaughton, B. L. (1990). Behavioral correlates of theta-on and theta-off cells recorded from hippocampal formation of mature young and aged rats. *Experimental Brain Research*, *80*, 365-373. doi: 10.1007/BF00228163/METRICS.
- Moda-Sava, R. N., Murdock, M. H., Parekh, P. K., Fetcho, R. N., Huang, B. S., Huynh, T. N., Witztum, J., Shaver, D. C., Rosenthal, D. L., Alway, E. J., Lopez, K., Meng, Y., Nellissen, L., Grosenick, L., Milner, T. A., Deisseroth, K., Bitó, H., Kasai, H., & Liston, C. (2019). Sustained rescue of prefrontal circuit dysfunction by antidepressant-induced spine formation. *Science*, *364*. doi: 10.1126/SCIENCE.AAT8078.
- Molendijk, M. L., Spinhoven, P., Polak, M., Bus, B. A., Penninx, B. W., & Elzinga, B. M. (2013). Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). *Molecular Psychiatry*, *19*, 791-800. doi: 10.1038/mp.2013.105.
- Mölle, M., & Born, J. (2011). Slow oscillations orchestrating fast oscillations and memory consolidation. *Progress in Brain Research*, *193*, 93-110. doi: 10.1016/B978-0-444-53839-0.00007-7.
- Monaca, C., Boutrel, B., Hen, R., Hamon, M., & Adrien, J. (2002). 5-HT_{1A}/1B Receptor-Mediated Effects of the Selective Serotonin Reuptake Inhibitor, Citalopram, on Sleep: Studies in 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} Knockout Mice. *Neuropsychopharmacology*, *28*, 850-856. doi: 10.1038/sj.npp.1300109.
- Moncrieff, J., Cooper, R. E., Stockmann, T., Amendola, S., Hengartner, M. P., & Horowitz, M. A. (2022). The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Molecular Psychiatry* *2022*, 1-14. doi: 10.1038/s41380-022-01661-0.
- Monteggia, L. M., Gideons, E., & Kavalali, E. T. (2013). The role of eukaryotic elongation factor 2 kinase in rapid antidepressant action of ketamine. *Biological*

- Psychiatry*, 73, 1199-1203. DOI: 10.1016/j.biopsych.2012.09.006.
- Monyer, H., Burnashev, N., Laurie, D. J., Sakmann, B., & Seeburg, P. H. (1994). Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron*, 12, 529-540. DOI: 10.1016/0896-6273(94)90210-0.
- Moore, R. Y., Halaris, A. E., & Jones, B. E. (1978). Serotonin neurons of the midbrain raphe: Ascending projections. *Journal of Comparative Neurology*, 180, 417-438. doi: 10.1002/CNE.901800302.
- Moran, R. J., Jones, M. W., Blockeel, A. J., Adams, R. A., Stephan, K. E., & Friston, K. J. (2014). Losing Control Under Ketamine: Suppressed Cortico-Hippocampal Drive Following Acute Ketamine in Rats. *Neuropsychopharmacology* 2015 40:2, 40, 268-277. doi: 10.1038/npp.2014.184.
- Morilak, D. A., & Frazer, A. (2004). Antidepressants and brain monoaminergic systems: a dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 7, 193-218. doi: 10.1017/S1461145704004080.
- Morishita, W., Connor, J. H., Xia, H., Quinlan, E. M., Shenolikar, S., & Malenka, R. C. (2001). Regulation of synaptic strength by protein phosphatase 1. *Neuron*, 32, 1133-1148. doi: 10.1016/S0896-6273(01)00554-2.
- Moritz, S., & Bartz-Beielstein, T. (2017). imputeTS: Time Series Missing Value Imputation in R. *The R Journal*, 9(1), 207-218. doi: 10.32614/RJ-2017-009.
- Moser, E. I., Moser, M. B., & McNaughton, B. L. (2017). Spatial representation in the hippocampal formation: a history. *Nature Neuroscience*, 20, 1448-1464. doi: 10.1038/nn.4653.
- Mulder, R., Boden, J., Carter, J., Luty, S., & Joyce, P. (2017). Ten month outcome of cognitive behavioural therapy v. interpersonal psychotherapy in patients with major depression: a randomised trial of acute and maintenance psychotherapy. *Psychological Medicine*, 47, 2540-2547. doi: 10.1017/S0033291717001106.
- Mulkey, R. M., & Malenka, R. C. (1992). Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*, 9, 967-975. doi: 10.1016/0896-6273(92)90248-C.
- Müller, M. B., Lucassen, P. J., Yassouridis, A., Hoogendijk, W. J., Holsboer, F., & Swaab, D. F. (2001). Neither major depression nor glucocorticoid treatment affects the cellular integrity of the human hippocampus. *European Journal of Neuroscience*, 14, 1603-1612. doi: 10.1046/J.0953-816X.2001.01784.X.
- Mumby, P. J. (2002). Statistical power of non-parametric tests: a quick guide for designing sampling strategies. *Marine pollution bulletin*, 44, 85-87. doi: 10.1016/S0025-326X(01)00097-2.
- Murphy, M., Riedner, B. A., Huber, R., Massimini, M., Ferrarelli, F., & Tononi, G. (2009). Source modeling sleep slow waves. *106*, 1608-1613. doi: 10.1073/PNAS.0807933106.
- Murray, E. A., Wise, S. P., & Drevets, W. C. (2011). Localization of dysfunction in major depressive disorder: prefrontal cortex and amygdala. *Biological psychiatry*, 69. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2010.09.041.
- Murrough, J. W., Iosifescu, D. V., Chang, L. C., Jurdi, R. K. A., Green, C. E., Perez, A. M., Iqbal, S., Pillemer, S., Foulkes, A., Shah, A., Charney, D. S., & Mathew, S. J. (2013). Antidepressant efficacy of ketamine in treatment-resistant major depression: A two-site randomized controlled trial. *American Journal of Psychiatry*, 170, 1134-1142. doi: 10.1176/APPI.AJP.2013.13030392.
- Murtagh, F., & Contreras, P. (2012). Algorithms for hierarchical clustering: an overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Data Mining and Knowledge Discovery*, 2, 86-97. doi: 10.1002/WIDM.53.
- Muthukumaraswamy, S. D., Shaw, A. D., Jackson, L. E., Hall, J., Moran, R., & Saxena, N. (2015). Evidence that Subanesthetic Doses of Ketamine Cause Sustained Disruptions of NMDA and AMPA-Mediated Frontoparietal Connectivity in Humans. *Journal of Neuroscience*, 35, 11694-11706. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0903-15.2015.
- Myers, B., McKlveen, J. M., & Herman, J. P. (2012). Neural Regulation of the Stress Response: The Many Faces of Feedback. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 32, 683-694. doi: 10.1007/S10571-012-9801-Y.
- Nägerl, U., Eberhorn, N., Cambridge, S. B., & Bonhoeffer, T. (2004). Bidirectional Activity-Dependent Morphological Plasticity in Hippocampal Neurons. *Neuron*, 44(5), 759-767. doi: https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.11.016.
- Nath, T., Mathis, A., Chen, A. C., Patel, A., Bethge, M., & Mathis, M. W. (2019). Using DeepLabCut for 3D markerless pose estimation across species and behaviors. *Nature protocols*, 14, 2152-2176. doi: 10.1038/S41596-019-0176-0.
- Neill, J. C., Barnes, S., Cook, S., Grayson, B., Idris, N. F., McLean, S. L., Snigdha, S., Rajagopal, L., & Harte, M. K. (2010). Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: Focus on NMDA receptor antagonism. *Pharmacology and Therapeutics*, 128, 419-432. doi: 10.1016/J.PHARMTHERA.2010.07.004.
- Nejati, V., Majdi, R., Salehinejad, M. A., & Nitsche, M. A. (2021). The role of dorsolateral and ventromedial prefrontal cortex in the processing of emotional dimensions. *Scientific Reports*, 11, 1-12. doi: 10.1038/s41598-021-81454-7.
- Nejati, V., Majidnezhad, M., & Nitsche, M. (2022). The role of the dorsolateral and ventromedial prefrontal cortex in emotion regulation in females with major depressive disorder (MDD): A tDCS study. *Journal of Psychiatric Research*, 148, 149-158. doi: 10.1016/J.JPSYCHIRES.2022.01.030.
- Nelson, J. C., & Davis, J. M. (1997). DST studies in psychotic depression: A metaanalysis. *American Journal of Psychiatry*, 154, 1497-1503. doi: 10.1176/AJP.154.11.1497.
- Neske, G. T., Patrick, S. L., & Connors, B. W. (2015). Contributions of diverse excitatory and inhibitory neurons to recurrent network activity in cerebral cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 35, 1089-1105. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2279-14.2015.
- Nestler, E. J., & Carlezon, W. A. (2006). The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression. *Bio-*

- logical Psychiatry*, 59, 1151-1159. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2005.09.018.
- Neumann, W. J., Huebl, J., Brücke, C., Gabriëls, L., Bajbouj, M., Merkl, A., Schneider, G. H., Nuttin, B., Brown, P., & Kühn, A. A. (2014). Different patterns of local field potentials from limbic DBS targets in patients with major depressive and obsessive compulsive disorder. *Molecular Psychiatry*, 19, 1186-1192. doi: 10.1038/mp.2014.2.
- Neuper, C., & Pfurtscheller, G. (2001). Event-related dynamics of cortical rhythms: frequency-specific features and functional correlates. *International Journal of Psychophysiology*, 43, 41-58. doi: 10.1016/S0167-8760(01)00178-7.
- Neymotin, S. A., Lazarewicz, M. T., Sherif, M., Contreras, D., Finkel, L. H., & Lytton, W. W. (2011). Ketamine Disrupts Theta Modulation of Gamma in a Computer Model of Hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 31, 11733-11743. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0501-11.2011.
- Nguyen, P. V., & Woo, N. H. (2003). Regulation of hippocampal synaptic plasticity by cyclic AMP-dependent protein kinases. *Progress in Neurobiology*, 71, 401-437. doi: 10.1016/J.PNEUROBIO.2003.12.003.
- Nichols, D. E., & Nichols, C. D. (2008). Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, 108, 1614-1641. doi: 10.1021/CR078224O.
- Nicolás, M. J., López-Azcárate, J., Valencia, M., Alegre, M., Pérez-Alcázar, M., Iriarte, J., & Artieda, J. (2011). Ketamine-Induced Oscillations in the Motor Circuit of the Rat Basal Ganglia. *PLOS ONE*, 6, e21814. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0021814.
- Niethard, N., Ngo, H. V. V., Ehrlich, I., & Born, J. (2018). Cortical circuit activity underlying sleep slow oscillations and spindles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115, E9220-E9229. doi: 10.1073/PNAS.1805517115.
- Nir, Y., Staba, R. J., Andrillon, T., Vyazovskiy, V. V., Cirelli, C., Fried, I., & Tononi, G. (2011). Regional Slow Waves and Spindles in Human Sleep. *Neuron*, 70, 153-169. doi: 10.1016/J.NEURON.2011.02.043.
- Nissen, C., Feige, B., Nofzinger, E. A., Voderholzer, U., Berger, M., & Riemann, D. (2006). EEG slow wave activity regulation in major depression. *Somnologie*, 10, 36-42. doi: 10.1007/J.1439-054X.2006.00083.X/METRICS.
- Nollet, M., Hicks, H., McCarthy, A. P., Wu, H., Möller-Levet, C. S., Laing, E. E., Malki, K., Lawless, N., Wafford, K. A., Dijk, D. J., & Winsky-Sommerer, R. (2019). REM sleep's unique associations with corticosterone regulation, apoptotic pathways, and behavior in chronic stress in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116, 2733-2742. doi: 10.1073/PNAS.1816456116.
- Noppers, I., Olofsen, E., Niesters, M., Aarts, L., Mooren, R., Dahan, A., Kharasch, E., & Sarton, E. (2011). Effect of Rifampicin on S-ketamine and S-norketamine Plasma Concentrations in Healthy Volunteers after Intravenous S-ketamine Administration. *Anesthesiology*, 114, 1435-1445. doi: 10.1097/ALN.0B013E318218A881.
- Nosyreva, E., Szabla, K., Autry, A. E., Ryazanov, A. G., Monteggia, L. M., & Kavalali, E. T. (2013). Acute Suppression of Spontaneous Neurotransmission Drives Synaptic Potentiation. *Journal of Neuroscience*, 33, 6990-7002. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4998-12.2013.
- Nowak, G., Ordway, G. A., & Paul, I. A. (1995). Alterations in the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor complex in the frontal cortex of suicide victims. *Brain Research*, 675, 157-164. doi: 10.1016/0006-8993(95)00057-W.
- Nugent, A. C., Ballard, E. D., Gilbert, J. R., Tewarie, P. K., Brookes, M. J., & Zarate, C. A. (2020). The Effect of Ketamine on Electrophysiological Connectivity in Major Depressive Disorder. *Frontiers in Psychiatry*, 11, 519. doi: 10.3389/FPSYT.2020.00519.
- Nugent, A. C., Ballard, E. D., Gould, T. D., Park, L. T., Moaddel, R., Brutsche, N. E., & Zarate, C. A. (2019). Ketamine has distinct electrophysiological and behavioral effects in depressed and healthy subjects. *Molecular Psychiatry*, 24, 1040-1052. doi: 10.1038/s41380-018-0028-2.
- Nugent, A. C., Miller, F. G., Henter, I. D., & Zarate, C. A. (2017). The ethics of clinical trials research in severe mood disorders. *Bioethics*, 31, 443. doi: 10.1111/BIOE.12349.
- Nutt, D. J., Wilson, S., & Paterson, L. (2008). Sleep disorders as core symptoms of depression. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 10, 329-336. doi: 10.31887/DCNS.2008.10.3/DNUTT.
- Oades, R. D., & Halliday, G. M. (1987). Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Research Reviews*, 12, 117-165. doi: 10.1016/0165-0173(87)90011-7.
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34, 171-175. doi: 10.1016/0006-8993(71)90358-1.
- O'Keefe, J. (1993). Hippocampus, theta, and spatial memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 3, 917-924. doi: 10.1016/0959-4388(93)90163-S.
- O'Keefe, J., & Recce, M. L. (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus*, 3, 317-330. doi: 10.1002/HIPO.450030307.
- Okuyama, T., Kitamura, T., Roy, D. S., Itohara, S., & Tonegawa, S. (2016). Ventral CA1 neurons store social memory. *Science*, 353, 1536-1541. doi: 10.1126/SCIENCE.AAF7003.
- Olf, M. (1999). Stress, depression and immunity: the role of defense and coping styles. *Psychiatry Research*, 85, 7-15. doi: 10.1016/S0165-1781(98)00139-5.
- OMS. (2022). *Depresión*.
- Orrego, F., & Villanueva, S. (1993). The chemical nature of the main central excitatory transmitter: A critical appraisal based upon release studies and synaptic vesicle localization. *Neuroscience*, 56, 539-555. doi: 10.1016/0306-4522(93)90355-J.
- Orser, B. A., Pennefather, P. S., & MacDonald, J. F. (1997). Multiple Mechanisms of Ketamine Blockade of N-methyl-D-aspartate Receptors. *Anesthesiology*, 86, 903-917. doi: 10.1097/0000542-199704000-00021.

- Ortuño, T., Lopez-Madrona, V. J., Makarova, J., Tapiá-Gonzalez, S., Muñoz, A., DeFelipe, J., & Herrerías, O. (2019). Slow-Wave Activity in the S1HL Cortex Is Contributed by Different Layer-Specific Field Potential Sources during Development. *The Journal of Neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *39*, 8900-8915. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.1212-19.2019](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1212-19.2019).
- Osborne, J. (2002). Notes on the use of data transformations. *Practical Assessment, Research, and Evaluation*, *8*. DOI: [10.7275/4vng-5608](https://doi.org/10.7275/4vng-5608).
- Osborne, J. (2019). Improving your data transformations: Applying the Box-Cox transformation. *Practical Assessment, Research, and Evaluation*, *15*, 12. DOI: <https://doi.org/10.7275/qbpc-gk17>.
- Ossato, A., Bilel, S., Gregori, A., Talarico, A., Trapella, C., Gaudio, R. M., De-Giorgio, F., Tagliaro, F., Neri, M., Fattore, L., & Marti, M. (2018). Neurological, sensorimotor and cardiorespiratory alterations induced by methoxetamine, ketamine and phencyclidine in mice. *Neuropharmacology*, *141*, 167-180. DOI: [10.1016/J.NEUROPHARM.2018.08.017](https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2018.08.017).
- Ostrander, M. M., Richtand, N. M., & Herman, J. P. (2003). Stress and amphetamine induce Fos expression in medial prefrontal cortex neurons containing glucocorticoid receptors. *Brain Research*, *990*, 209-214. DOI: [10.1016/J.BRAINRES.2003.07.001](https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2003.07.001).
- Ota, K. T., Liu, R. J., Voleti, B., Maldonado-Aviles, J. G., Duric, V., Iwata, M., Duthiel, S., Duman, C., Boikess, S., Lewis, D. A., Stockmeier, C. A., DiLeone, R. J., Rex, C., Aghajanian, G. K., & Duman, R. S. (2014). REDD1 is essential for stress-induced synaptic loss and depressive behavior. *Nature Medicine*, *20*, 531-535. DOI: [10.1038/nm.3513](https://doi.org/10.1038/nm.3513).
- Owens, M. J., Knight, D. L., & Nemeroff, C. B. (2001). Second-generation SSRIs: human monoamine transporter binding profile of escitalopram and R-fluoxetine. *Biological psychiatry*, *50*, 345-350. DOI: [10.1016/S0006-3223\(01\)01145-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(01)01145-3).
- Pace, T. W., & Miller, A. H. (2009). Cytokines and Glucocorticoid Receptor Signaling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1179*, 86-105. DOI: [10.1111/J.1749-6632.2009.04984.X](https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2009.04984.X).
- Padilla-Coreano, N., Bolkan, S. S., Pierce, G. M., Blackman, D. R., Hardin, W. D., Garcia-Garcia, A. L., Spellman, T. J., & Gordon, J. A. (2016). Direct Ventral Hippocampal-Prefrontal Input Is Required for Anxiety-Related Neural Activity and Behavior. *Neuron*, *89*, 857-866. DOI: [10.1016/J.NEURON.2016.01.011](https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2016.01.011).
- Padilla-Coreano, N., Canetta, S., Mikofsky, R. M., Alway, E., Passecker, J., Myroshnychenko, M. V., Garcia-Garcia, A. L., Warren, R., Teboul, E., Blackman, D. R., Morton, M. P., Hupalo, S., Tye, K. M., Kellendonk, C., Kupferschmidt, D. A., & Gordon, J. A. (2019). Hippocampal-Prefrontal Theta Transmission Regulates Avoidance Behavior. *Neuron*, *104*, 601-610.e4. DOI: [10.1016/j.neuron.2019.08.006](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.08.006).
- Page, G., Khidir, F. A., Pain, S., Barrier, L., Fauconneau, B., Guillard, O., Piriou, A., & Hugon, J. (2006). Group I metabotropic glutamate receptors activate the p70S6 kinase via both mammalian target of rapamycin (mTOR) and extracellular signal-regulated kinase (ERK 1/2) signaling pathways in rat striatal and hippocampal synaptoneuroosomes. *Neurochemistry International*, *49*, 413-421. DOI: [10.1016/J.NEUINT.2006.01.020](https://doi.org/10.1016/J.NEUINT.2006.01.020).
- Pagliardini, S., Gosgnach, S., & Dickson, C. T. (2013). Spontaneous Sleep-Like Brain State Alternations and Breathing Characteristics in Urethane Anesthetized Mice. *PLOS ONE*, *8*, e70411. DOI: [10.1371/JOURNAL.PONE.0070411](https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0070411).
- Pal, D., Silverstein, B. H., Sharba, L., Li, D., Hambrecht-Wiedbusch, V. S., Hudetz, A. G., & Mashour, G. A. (2017). Propofol, Sevoflurane, and Ketamine Induce a Reversible Increase in Delta-Gamma and Theta-Gamma Phase-Amplitude Coupling in Frontal Cortex of Rat. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *11*, 41. DOI: [10.3389/FNSYS.2017.00041](https://doi.org/10.3389/FNSYS.2017.00041).
- Palagini, L., Baglioni, C., Ciapparelli, A., Gemignani, A., & Riemann, D. (2013). REM sleep dysregulation in depression: State of the art. *Sleep Medicine Reviews*, *17*, 377-390. DOI: [10.1016/J.SMRV.2012.11.001](https://doi.org/10.1016/J.SMRV.2012.11.001).
- Palazidou, E. (2012). The neurobiology of depression. *British Medical Bulletin*, *101*, 127-145. DOI: [10.1093/BMB/LDS004](https://doi.org/10.1093/BMB/LDS004).
- Parés-Badell, O., Barbaglia, G., Jerinic, P., Gustavsson, A., Salvador-Carulla, L., & Alonso, J. (2014). Cost of disorders of the brain in Spain. *PloS one*, *9*. DOI: [10.1371/JOURNAL.PONE.0105471](https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0105471).
- Park, C. A., Kwon, R. J., Kim, S., Jang, H. R., Chae, J. H., Kim, T., & Jeong, J. (2007). Decreased phase synchronization of the EEG in patients with major depressive disorder. *IFMBE Proceedings*, *14*, 1095-1098. DOI: [10.1007/978-3-540-36841-0_262/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-540-36841-0_262/COVER).
- Park, H., & Poo, M. M. (2012). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature Reviews Neuroscience*, *14*, 7-23. DOI: [10.1038/nrn3379](https://doi.org/10.1038/nrn3379).
- Park, M., Penick, E. C., Edwards, J. G., Kauer, J. A., & Ehlers, M. D. (2004). Recycling endosomes supply AMPA receptors for LTP. *Science*, *305*, 1972-1975. DOI: [10.1126/SCIENCE.1102026](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1102026).
- Partridge, J. G., Forcelli, P. A., Luo, R., Cashdan, J. M., Schulkun, J., Valentino, R. J., & Vicini, S. (2016). Stress increases GABAergic neurotransmission in CRF neurons of the central amygdala and bed nucleus stria terminalis. *Neuropharmacology*, *107*, 239-250. DOI: [10.1016/J.NEUROPHARM.2016.03.029](https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2016.03.029).
- Pasco, J. A., Nicholson, G. C., Williams, L. J., Jacka, F. N., Henry, M. J., Kotowicz, M. A., Schneider, H. G., Leonard, B. E., & Berk, M. (2010). Association of high sensitivity C reactive protein with de novo major depression. *The British Journal of Psychiatry*, *197*, 372-377. DOI: [10.1192/BJP.BP.109.076430](https://doi.org/10.1192/BJP.BP.109.076430).
- Patel, D., Anilkumar, S., Chattarji, S., & Buwalda, B. (2018). Repeated social stress leads to contrasting patterns of structural plasticity in the amygdala and hippocampus. *Behavioural Brain Research*, *347*, 314-324. DOI: [10.1016/J.BBR.2018.03.034](https://doi.org/10.1016/J.BBR.2018.03.034).
- Paul, R. K., Singh, N. S., Khadeer, M., Moaddel, R., Sanghvi, M., Green, C. E., O'Loughlin, K., Torjman, M. C., Bernier, M., & Wainer, I. W. (2014). (R,S)-Ketamine Metabolites (R,S)-norketamine and (2S,6S)-hydroxynorketamine Increase the Mammalian Target of Rapamycin Function. *Anesthesiology*, *121*, 149-159. DOI: [10.1097/ALN.0000000000000285](https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000285).

- Paunio, T., Korhonen, T., Hublin, C., Partinen, M., Koskenvuo, K., Koskenvuo, M., & Kaprio, J. (2015). Poor sleep predicts symptoms of depression and disability retirement due to depression. *Journal of Affective Disorders*, *172*, 381-389. doi: 10.1016/J.JAD.2014.10.002.
- Paxinos, G., & Franklin, K. B. (2008). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. Third Edition*. Academic Press.
- Pazini, F. L., Rosa, J. M., Camargo, A., Fraga, D. B., Moretti, M., Siteneski, A., & Rodrigues, A. L. S. (2020). mTORC1-dependent signaling pathway underlies the rapid effect of creatine and ketamine in the novelty-suppressed feeding test. *Chemico-Biological Interactions*, *332*, 109281. doi: 10.1016/J.CBI.2020.109281.
- Pazos, A., & Palacios, J. M. (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Research*, *346*, 205-230. doi: 10.1016/0006-8993(85)90856-X.
- Pearl, D., Yodashtkin-Porat, D., Katz, N., Valevski, A., Aizenberg, D., Sigler, M., Weizman, A., & Kikinzon, L. (2009). Differences in audiovisual integration, as measured by McGurk phenomenon, among adult and adolescent patients with schizophrenia and age-matched healthy control groups. *Comprehensive Psychiatry*, *50*, 186-192. doi: 10.1016/J.COMPPSYCH.2008.06.004.
- Pebesma, E. J., & Bivand, R. S. (2005). Classes and methods for spatial data in R. *R News*, *5*(2), 9-13.
- Pechtel, P., & Pizzagalli, D. A. (2011). Effects of early life stress on cognitive and affective function: An integrated review of human literature. *Psychopharmacology*, *214*, 55-70. doi: 10.1007/S00213-010-2009-2/FIGURES/1.
- Pelkey, K. A., Chittajallu, R., Craig, M. T., Tricoire, L., Wester, J. C., & McBain, C. J. (2017). Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons. *Physiological reviews*, *97*, 1619-1747. doi: 10.1152/PHYSREV.00007.2017.
- Pelletier, J. G., & Paré, D. (2004). Role of amygdala oscillations in the consolidation of emotional memories. *Biological Psychiatry*, *55*, 559-562. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2003.08.019.
- Pellow, S., & File, S. E. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *24*, 525-529. doi: 10.1016/0091-3057(86)90552-6.
- Peltoniemi, M. A., Hagelberg, N. M., Olkkola, K. T., & Saari, T. I. (2016). Ketamine: A Review of Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Anesthesia and Pain Therapy. *Clinical Pharmacokinetics*, *55*, 1059-1077. doi: 10.1007/S40262-016-0383-6.
- Pérez-Pelea, L. (2018). How do we proceed to violations of parametric methods assumptions? or how to work with non-normal biological variables? *Revista del Jardín Botánico Nacional*, *39*, 1-12. doi: https://www.jstor.org/stable/26600674.
- Petit-Demouliere, B., Chenu, F., & Bourin, M. (2005). Forced swimming test in mice: A review of antidepressant activity. *Psychopharmacology*, *177*, 245-255. doi: 10.1007/S00213-004-2048-7/METRICS.
- Petrides, M., Tomaiuolo, F., Yeterian, E. H., & Pandya, D. N. (2012). The prefrontal cortex: Comparative architectonic organization in the human and the macaque monkey brains. *Cortex*, *48*, 46-57. doi: 10.1016/J.CORTEX.2011.07.002.
- Pham, T. H., Mendez-David, I., Defaix, C., Guiard, B. P., Tritschler, L., David, D. J., & Gardier, A. M. (2017). Ketamine treatment involves medial prefrontal cortex serotonin to induce a rapid antidepressant-like activity in BALB/cJ mice. *Neuropharmacology*, *112*, 198-209. doi: 10.1016/J.NEUROPHARM.2016.05.010.
- Phelps, E. A., & LeDoux, J. E. (2005). Contributions of the Amygdala to Emotion Processing: From Animal Models to Human Behavior. *Neuron*, *48*, 175-187. doi: 10.1016/J.NEURON.2005.09.025.
- Phillips, J. L., Norris, S., Talbot, J., Birmingham, M., Hatchard, T., Ortiz, A., Owwoye, O., Batten, L. A., & Blier, P. (2019). Single, repeated, and maintenance ketamine infusions for treatment-resistant depression: A randomized controlled trial. *American Journal of Psychiatry*, *176*, 401-409. doi: 10.1176/appi.ajp.2018.18070834.
- Phillipson, O. T., & Griffiths, A. C. (1985). The topographic order of inputs to nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience*, *16*, 275-296. doi: 10.1016/0306-4522(85)90002-8.
- Phoumthippavong, V., Barthas, F., Hassett, S., & Kwan, A. C. (2016). Longitudinal Effects of Ketamine on Dendritic Architecture In Vivo in the Mouse Medial Frontal Cortex. *eNeuro*, *3*, 91-95. doi: 10.1523/ENEURO.0133-15.2016.
- Piccolino, M. (1998). Animal electricity and the birth of electrophysiology: the legacy of Luigi Galvani. *Brain Research Bulletin*, *46*, 381-407. doi: 10.1016/S0361-9230(98)00026-4.
- Pinault, D. (2008). N-Methyl d-Aspartate Receptor Antagonists Ketamine and MK-801 Induce Wake-Related Aberrant Oscillations in the Rat Neocortex. *Biological Psychiatry*, *63*, 730-735. doi: 10.1016/j.biopsych.2007.10.006.
- Pitkänen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N., & Ylinen, A. (2000). Reciprocal Connections between the Amygdala and the Hippocampal Formation, Perirhinal Cortex, and Postrhinal Cortex in Rat: A Review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *911*, 369-391. doi: 10.1111/J.1749-6632.2000.TB06738.X.
- Pittenger, C., & Duman, R. S. (2007). Stress, Depression, and Neuroplasticity: A Convergence of Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, *33*, 88-109. doi: 10.1038/sj.npp.1301574.
- Piva, A., Caffino, L., Mottarlini, F., Pintori, N., Díaz, F. C., Fumagalli, F., & Chiamulera, C. (2021). Metaplastic Effects of Ketamine and MK-801 on Glutamate Receptors Expression in Rat Medial Prefrontal Cortex and Hippocampus. *Molecular Neurobiology*, *58*, 3443-3456. doi: 10.1007/S12035-021-02352-7.
- Pizzagalli, D. A. (2010). Frontocingulate Dysfunction in Depression: Toward Biomarkers of Treatment Response. *Neuropsychopharmacology*, *36*, 183-206. doi: 10.1038/npp.2010.166.
- Pizzagalli, D. A., Peccoralo, L. A., Davidson, R. J., & Cohen, J. D. (2006). Resting anterior cingulate activity and abnormal responses to errors in subjects with

- elevated depressive symptoms: A 128-channel study. *Human Brain Mapping*, 27, 185-201. DOI: 10.1002/HBM.20172.
- Pizzagalli, D. A., & Roberts, A. C. (2021). Prefrontal cortex and depression. *Neuropsychopharmacology*, 47, 225-246. DOI: 10.1038/s41386-021-01101-7.
- Plante, D. T., Landsness, E. C., Peterson, M. J., Goldstein, M. R., Wanger, T., Guokas, J. J., Tononi, G., & Benca, R. M. (2012). Altered slow wave activity in major depressive disorder with hypersomnia: A high density EEG pilot study. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 201, 240-244. DOI: 10.1016/J.PSCYCHRESNS.2012.03.001.
- Pochwat, B., Nowak, G., & Szewczyk, B. (2019). An update on NMDA antagonists in depression. *Expert review of neurotherapeutics*, 19, 1055-1067. DOI: 10.1080/14737175.2019.1643237.
- Polis, A. J., Fitzgerald, P. J., Hale, P. J., & Watson, B. O. (2019). Rodent ketamine depression-related research: Finding patterns in a literature of variability. *Behavioural Brain Research*, 376, 112153. DOI: 10.1016/J.BBR.2019.112153.
- Popik, P., Hołuj, M., Kos, T., Nowak, G., Librowski, T., & Salat, K. (2017). Comparison of the Psychopharmacological Effects of Tiletamine and Ketamine in Rodents. *Neurotoxicity Research*, 32, 544-554. DOI: 10.1007/S12640-017-9759-0.
- Popova, V., Daly, E. J., Trivedi, M., Cooper, K., Lane, R., Lim, P., Mazzucco, C., Hough, D., Thase, M. E., Shelton, R. C., Molero, P., Vieta, E., Bajbouj, M., Manji, H., Drevets, W. C., & Singh, J. B. (2019). Efficacy and safety of flexibly dosed esketamine nasal spray combined with a newly initiated oral antidepressant in treatment-resistant depression: A randomized double-blind active-controlled study. *American Journal of Psychiatry*, 176, 428-438. DOI: 10.1176/appi.ajp.2019.19020172.
- Popp, S., Behl, B., Joshi, J. J., Lanz, T. A., Spedding, M., Schenker, E., Jay, T. M., Svenningsson, P., Caudal, D., Cunningham, J. I., Deaver, D., & Bespalov, A. (2016). In search of the mechanisms of ketamine's antidepressant effects: How robust is the evidence behind the mTOR activation hypothesis. *F1000Research* 2016 5:634, 5, 634. DOI: 10.12688/f1000research.8236.1.
- Porsolt, R. D., Anton, G., Blavet, N., & Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European journal of pharmacology*, 47, 379-391. DOI: 10.1016/0014-2999(78)90118-8.
- Posner, M. I., & Rothbart, M. K. (2006). Research on Attention Networks as a Model for the Integration of Psychological Science. *Annual review of psychology*, 58, 1-23. DOI: 10.1146/ANNUREV.PSYCH.58.110405.085516.
- Pourhamzeh, M., Moravej, F. G., Arabi, M., Shahriari, E., Mehrabi, S., Ward, R., Ahadi, R., & Joghataei, M. T. (2022). The Roles of Serotonin in Neuropsychiatric Disorders. *Cellular and molecular neurobiology*, 42, 1671-1692. DOI: 10.1007/S10571-021-01064-9.
- Preuss, T. M. (1995). Do Rats Have Prefrontal Cortex? *Journal of Cognitive Neuroscience*, 7, 1-24. DOI: 10.1162/JOCN.1995.7.1.1.
- Prewitt, C. M., & Herman, J. P. (1998). Anatomical interactions between the central amygdaloid nucleus and the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat: A dual tract-tracing analysis. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 15, 173-186. DOI: 10.1016/S0891-0618(98)00045-3.
- Price, R. B., & Duman, R. (2019). Neuroplasticity in cognitive and psychological mechanisms of depression: an integrative model. *Molecular Psychiatry*, 25, 530-543. DOI: 10.1038/s41380-019-0615-x.
- Price, R. B., Nock, M. K., Charney, D. S., & Mathew, S. J. (2009). Effects of Intravenous Ketamine on Explicit and Implicit Measures of Suicidality in Treatment-Resistant Depression. *Biological Psychiatry*, 66, 522-526. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.04.029.
- Proulx, C. D., Hikosaka, O., & Malinow, R. (2014). Reward processing by the lateral habenula in normal and depressive behaviors. *Nature Neuroscience*, 17, 1146-1152. DOI: 10.1038/nn.3779.
- Prus, A. J., James, J. R., & Rosecrans, J. A. (2009). *Conditioned Place Preference*. DOI: 10.1007/978-3-319-55065-7_1303.
- Pryazhnikov, E., Mugantseva, E., Casarotto, P., Kolikova, J., Fred, S. M., Toptunov, D., Afzalov, R., Hotulainen, P., Voikar, V., Terry-Lorenzo, R., Engel, S., Kirov, S., Castren, E., & Khiroug, L. (2018). Longitudinal two-photon imaging in somatosensory cortex of behaving mice reveals dendritic spine formation enhancement by subchronic administration of low-dose ketamine. *Scientific Reports*, 8, 1-12. DOI: 10.1038/s41598-018-24933-8.
- Puig, M. V., Watakabe, A., Ushimaru, M., Yamamori, T., & Kawaguchi, Y. (2010). Serotonin Modulates Fast-Spiking Interneuron and Synchronous Activity in the Rat Prefrontal Cortex through 5-HT1A and 5-HT2A Receptors. *Journal of Neuroscience*, 30, 2211-2222. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3335-09.2010.
- Pytliak, M., Vargová, V., Mechírová, V., Felšöci, M., & Pytliak, M. (2011). Serotonin Receptors-From Molecular Biology to Clinical Applications. *Physiological research*, 60, 15-25. DOI: 10.33549/physiolres.931903.
- Qi, R., Li, J., Wu, X., Geng, X., Chen, N., & Yu, H. (2018). Effects of Ketamine on Basal Gamma Band Oscillation and Sensory Gating in Prefrontal Cortex of Awake Rats. *Neuroscience Bulletin*, 34, 457-464. DOI: 10.1007/S12264-018-0208-8.
- Qin, Y., Mahdavi, A., Bertschy, M., Anderson, P. M., Kulikova, S., & Pinault, D. (2023). The psychotomimetic ketamine disrupts the transfer of late sensory information in the corticothalamic network. *European Journal of Neuroscience*, 57, 440-455. DOI: 10.1111/EJN.15845.
- Qin, Y., Zhu, Y., Baumgart, J. P., Stornetta, R. L., Seidenman, K., Mack, V., Aelst, L. V., & Zhu, J. J. (2005). State-dependent Ras signaling and AMPA receptor trafficking. *Genes and Development*, 19, 2000-2015. DOI: 10.1101/GAD.342205.
- Quentin, E., Belmer, A., & Maroteaux, L. (2018). Somatodendritic Regulation of Raphe Serotonin Neurons; A Key to Antidepressant Action. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 982. DOI: 10.3389/FNINS.2018.00982.
- Quibell, R., Prommer, E. E., Mihalyo, M., Twycross, R., & Wilcock, A. (2011). Ketamine*. *Journal of Pain and*

- Symptom Management*, 41, 640-649. DOI: 10.1016/j.jpainsymman.2011.01.001.
- Quinaux, N., Scuvée-Moreau, J., & Dresse, A. (1982). Inhibition of in vitro and ex vivo uptake of norepinephrine and 5-hydroxytryptamine by five antidepressants; Correlation with reduction of spontaneous firing rate of central monoaminergic neurones. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 319, 66-70. DOI: 10.1007/BF00491480/METRICS.
- Quraan, M. A., Protzner, A. B., Daskalakis, Z. J., Jacobbe, P., Tang, C. W., Kennedy, S. H., Lozano, A. M., & McAndrews, M. P. (2013). EEG Power Asymmetry and Functional Connectivity as a Marker of Treatment Effectiveness in DBS Surgery for Depression. *Neuropsychopharmacology*, 39, 1270-1281. DOI: 10.1038/npp.2013.330.
- R Core Team. (2013). *R: A Language and Environment for Statistical Computing* [ISBN 3-900051-07-0]. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Radley, J. J., Gosselink, K. L., & Sawchenko, P. E. (2009). A Discrete GABAergic Relay Mediates Medial Prefrontal Cortical Inhibition of the Neuroendocrine Stress Response. *Journal of Neuroscience*, 29, 7330-7340. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5924-08.2009.
- Raghavan, M., Fee, D., & Barkhaus, P. E. (2019). Generation and propagation of the action potential. *Handbook of Clinical Neurology*, 160, 3-22. DOI: 10.1016/B978-0-444-64032-1.00001-1.
- Rajkowska, G., Miguel-Hidalgo, J. J., Wei, J., Dille, G., Pittman, S. D., Meltzer, H. Y., Overholser, J. C., Roth, B. L., & Stockmeier, C. A. (1999). Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biological Psychiatry*, 45, 1085-1098. DOI: 10.1016/S0006-3223(99)00041-4.
- Ramón y Cajal, S. (2007). *Histología del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Tomo 1*. BOE.
- Rao, V. R., & Finkbeiner, S. (2007). NMDA and AMPA receptors: old channels, new tricks. *Trends in Neurosciences*, 30, 284-291. DOI: 10.1016/j.tins.2007.03.012.
- Rapport, M. M., Green, A. A., & Page, I. H. (1948). Crystalline Serotonin. *Science (New York, N.Y.)*, 108, 329-330. DOI: 10.1126/SCIENCE.108.2804.329.
- Rasmussen, J. L. (1986). An evaluation of parametric and non-parametric tests on modified and non-modified data. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, 39, 213-220. DOI: 10.1111/J.2044-8317.1986.TB00858.X.
- Regier, D. A., Rae, D. S., Narrow, W. E., Kaelber, C. T., & Schatzberg, A. F. (1998). Prevalence of anxiety disorders and their comorbidity with mood and addictive disorders. *The British Journal of Psychiatry*, 173, 24-28. DOI: 10.1192/S0007125000293483.
- Ren, Z., Pribiag, H., Jefferson, S. J., Shorey, M., Fuchs, T., Stellwagen, D., & Luscher, B. (2016). Bidirectional Homeostatic Regulation of a Depression-Related Brain State by Gamma-Aminobutyric Acidergic Deficits and Ketamine Treatment. *Biological Psychiatry*, 80, 457-468. DOI: 10.1016/j.biopsych.2016.02.009.
- Reul, J. M., & Kloet, E. R. D. (1985). Two Receptor Systems for Corticosterone in Rat Brain: Microdistribution and Differential Occupation. *Endocrinology*, 117, 2505-2511. DOI: 10.1210/ENDO-117-6-2505.
- Reul, J. M., Stec, I., Soder, M., & Holsboer, F. (1993). Chronic treatment of rats with the antidepressant amitriptyline attenuates the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system. *Endocrinology*, 133, 312-320. DOI: 10.1210/ENDO.133.1.8391426.
- Ribas, V. R., Ribas, R. G., de Almeida Nóbrega, J., da Nóbrega, M. V., de Andrade Espécie, J. A., Calafange, M. T., de Oliveira Mendes Calafange, C., & de Lima Martins, H. A. (2018). Pattern of anxiety, insecurity, fear, panic and/or phobia observed by quantitative electroencephalography (QEEG). *Dementia and Neuropsychologia*, 12, 264-271. DOI: 10.1590/1980-57642018DN12-030007.
- Richieri, R., Borius, P. Y., Lagrange, G., Faget-Agius, C., Guedj, E., Gonigal, A. M., Régis, J. M., Lançon, C., & Bartolomei, F. (2016). Unmasking Partial Seizure after Deep Brain Stimulation for Treatment-Resistant Depression: A Case Report. *Brain Stimulation*, 9, 636-638. DOI: 10.1016/j.brs.2016.05.001.
- Richter, C. P., & Campbell, K. H. (1940). Taste Thresholds and Taste Preferences of Rats for Five Common Sugars: Five Figures. *The Journal of Nutrition*, 20, 31-46. DOI: 10.1093/JN/20.1.31.
- Riemann, D., Berger, M., & Voderholzer, U. (2001). Sleep and depression — results from psychobiological studies: an overview. *Biological Psychology*, 57, 67-103. DOI: 10.1016/S0301-0511(01)00090-4.
- Ringnér, M. (2008). What is principal component analysis? *Nature Biotechnology*, 26, 303-304. DOI: 10.1038/nbt0308-303.
- Rivera, M., Gutiérrez, B., Molina, E., Torres-González, F., Belión, J. A., Moreno-Küstner, B., King, M., Nazareth, I., Martínez-González, L. J., Maríñez-Espín, E., Muñoz-García, M. M., Motricó, E., Martínez-Cañavate, T., Lorente, J. A., Luna, J. D., & Cervilla, J. A. (2009). High-activity variants of the uMAOA polymorphism increase the risk for depression in a large primary care sample. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 150B, 395-402. DOI: 10.1002/AJMG.B.30829.
- Rivolta, D., Heidegger, T., Scheller, B., Sauer, A., Schaum, M., Birkner, K., Singer, W., Wibral, M., & Uhlhaas, P. J. (2015). Ketamine Dysregulates the Amplitude and Connectivity of High-Frequency Oscillations in Cortical-Subcortical Networks in Humans: Evidence From Resting-State Magnetoencephalography Recordings. *Schizophrenia Bulletin*, 41, 1105-1114. DOI: 10.1093/SCHBUL/SBV051.
- Robb, M. A., McInnes, P. M., & Califf, R. M. (2016). Biomarkers and Surrogate Endpoints: Developing Common Terminology and Definitions. *JAMA*, 315, 1107-1108. DOI: 10.1001/JAMA.2016.2240.
- Roddy, D., Kelly, J. R., Farrell, C., Doolin, K., Roman, E., Nasa, A., Frodl, T., Harkin, A., O'Mara, S., O'Hanlon, E., & O'Keane, V. (2021). Amygdala substructure volumes in Major Depressive Disorder. *NeuroImage: Clinical*, 31, 102781. DOI: 10.1016/j.NICL.2021.102781.
- Romanowski, C. P., Fenzl, T., Flachsamm, C., Wurst, W., Holsboer, F., Deussing, J. M., & Kimura, M. (2010). Central Deficiency of Corticotropin-Releasing Hor-

- more Receptor Type 1 (CRH-R1) Abolishes Effects of CRH on NREM But Not on REM Sleep in Mice. *Sleep*, 33, 427. DOI: 10.1093/SLEEP/33.4.427.
- Roohi-Azizi, M., Azimi, L., Heysiattalab, S., & Aamidfar, M. (2017). Changes of the brain's bioelectrical activity in cognition, consciousness, and some mental disorders. *Medical Journal of The Islamic Republic of Iran (MJIRI)*, 31, 307-312. DOI: 10.14196/MJIRI.31.53.
- Roozendaal, B., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 423-433. DOI: 10.1038/nrn2651.
- Rosburg, T., & Kreitschmann-Andermahr, I. (2016). The effects of ketamine on the mismatch negativity (MMN) in humans – A meta-analysis. *Clinical Neurophysiology*, 127, 1387-1394. DOI: 10.1016/J.CLINPH.2015.10.062.
- Rose, J., & Woolsey, C. (1948). The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Research publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease*, 27, 210-232.
- Rose, M. (1929). *Cytoarchitektonischer atlas der grobhirnrinde der maus*. Johann Ambrosius Barth.
- Rothstein, J. D., Martin, L., Levey, A. I., Dykes-Hoberg, M., Jin, L., Wu, D., Nash, N., & Kuncl, R. W. (1994). Localization of Neuronal and Glial Glutamate Transporters. *Neuron*, 13, 713-725.
- Rubaiy, H. N. (2017). A Short Guide to Electrophysiology and Ion Channels. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 20, 48-67. DOI: 10.18433/J32P6R.
- Ruhè, H. G., Mason, N. S., & Schene, A. H. (2007). Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Molecular Psychiatry* 2007, 12, 331-359. DOI: 10.1038/sj.mp.4001949.
- Ruit, G., & Neafsey, E. J. (1990). Hippocampal input to a visceral motor corticobulbar pathway: an anatomical and electrophysiological study in the rat. *Experimental Brain Research*, 82, 606-616. DOI: 10.1007/BF00228802/METRICS.
- Ruiz-Mejias, M., Ciria-Suarez, L., Mattia, M., & Sanchez-Vives, M. V. (2011). Slow and fast rhythms generated in the cerebral cortex of the anesthetized mouse. *Journal of Neurophysiology*, 106, 2910-2921. DOI: 10.1152/JN.00440.2011.
- Rush, A. J., Trivedi, M. H., Wisniewski, S. R., Nierenberg, A. A., Stewart, J. W., Warden, D., Niederehe, G., Thase, M. E., Lavori, P. W., Lebowitz, B. D., McGrath, P. J., Rosenbaum, J. F., Sackeim, H. A., Kupfer, D. J., Luther, J., & Fava, M. (2006). Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR*D report. *The American journal of psychiatry*, 163, 1905-1917. DOI: 10.1176/AJP.2006.163.11.1905.
- Sacktor, T. C. (2008). PKM , LTP maintenance, and the dynamic molecular biology of memory storage. *Progress in Brain Research*, 169, 27-40. DOI: 10.1016/S0079-6123(07)00002-7.
- Sacktor, T. C. (2010). How does PKM maintain long-term memory? *Nature Reviews Neuroscience*, 12, 9-15. DOI: 10.1038/nrn2949.
- Sáenz, J. C. B., Villagra, O. R., & Trías, J. F. (2006). Factor analysis of Forced Swimming test, Sucrose Preference test and Open Field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behavioural Brain Research*, 169, 57-65. DOI: 10.1016/J.BBR.2005.12.001.
- Sainsbury, R. S., Heynen, A., & Montoya, C. P. (1987). Behavioral correlates of hippocampal type 2 theta in the rat. *Physiology and Behavior*, 39, 513-519. DOI: 10.1016/0031-9384(87)90382-9.
- Sakai, K. (1988). Executive mechanisms of paradoxical sleep. *Archives Italiennes de Biologie*, 126, 239-257. DOI: 10.4449/AIB.V126I4.969.
- Sakia, R. M. (1992). The Box-Cox Transformation Technique: A Review. *Journal of the Royal Statistical Society: Series D (The Statistician)*, 41, 169-178. DOI: 10.2307/2348250.
- Saland, S. K., Schoepfer, K. J., & Kabbaj, M. (2016). Hedonic sensitivity to low-dose ketamine is modulated by gonadal hormones in a sex-dependent manner. *Scientific Reports* 2016 6:1, 6, 1-16. DOI: 10.1038/srep21322.
- Saletu, B., Anderer, P., & Saletu-Zyhlarz, G. M. (2010). EEG Topography and Tomography (LORETA) in Diagnosis and Pharmacotherapy of Depression. *Clinical EEG and neuroscience*, 41, 203-210. DOI: 10.1177/155005941004100407.
- Salzman, C. D., & Fusi, S. (2010). Emotion, Cognition, and Mental State Representation in Amygdala and Prefrontal Cortex. *Annual review of neuroscience*, 33, 173-202. DOI: 10.1146/ANNUREV.NEURO.051508.135256.
- Sambeth, A., Riedel, W. J., Smits, L. T., & Blokland, A. (2007). Cholinergic drugs affect novel object recognition in rats: relation with hippocampal EEG? *European journal of pharmacology*, 572, 151-159. DOI: 10.1016/J.EJPHAR.2007.06.018.
- Sanabria-Bohórquez, S. M., Biver, F., Damhaut, P., Winkler, D., Veraart, C., & Goldman, S. (2002). Quantification of 5-HT1A receptors in human brain using p-MPPF kinetic modelling and PET. *European Journal of Nuclear Medicine*, 29, 76-81. DOI: 10.1007/S00259-001-0684-2/METRICS.
- Sanacora, G., Zarate, C. A., Krystal, J. H., & Manji, H. K. (2008). Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7, 426-437. DOI: 10.1038/nrd2462.
- Sanchez-Vives, M. V., & Mattia, M. (2014). Slow wave activity as the default mode of the cerebral cortex. *Archives Italiennes de Biologie*, 152, 147-155. DOI: 10.4449/AIB.V152I2/3.3677.
- Sanford, A. M. (2018). Lewy Body Dementia. *Clinics in Geriatric Medicine*, 34, 603-615. DOI: 10.1016/j.cger.2018.06.007.
- Sanford, L. D., Yang, L., Wellman, L. L., Dong, E., & Tang, X. (2008). Mouse strain differences in the effects of corticotropin releasing hormone (CRH) on sleep and wakefulness. *Brain research*, 1190, 94-104. DOI: 10.1016/J.BRAINRES.2007.11.007.
- Santana, M. M., Rosmaninho-Salgado, J., Cortez, V., Pereira, F. C., Kaster, M. P., Aveleira, C. A., Ferreira, M., Álvaro, A. R., & Cavadas, C. (2015). Impaired adrenal medullary function in a mouse model of

- depression induced by unpredictable chronic stress. *European Neuropsychopharmacology*, 25, 1753-1766. doi: 10.1016/J.EURONEURO.2015.06.013.
- Santana, N., Bortolozzi, A., Serrats, J., Mengod, G., & Artigas, F. (2004). Expression of Serotonin1A and Serotonin2A Receptors in Pyramidal and GABAergic Neurons of the Rat Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, 14, 1100-1109. doi: 10.1093/CERCOR/BHH070.
- Saper, C. B. (1982). Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology*, 210, 163-173. doi: 10.1002/CNE.902100207.
- Sawchenko, P. E., Imaki, T., & Vale, W. (1992). Co-Localization of Neuroactive Substances in the Endocrine Hypothalamus. *Ciba Foundation symposium*, 168, 16-42. doi: 10.1002/9780470514283.CH3.
- Scarr, E., Pavey, G., Sundram, S., MacKinnon, A., & Dean, B. (2003). Decreased hippocampal NMDA, but not kainate or AMPA receptors in bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, 5, 257-264. doi: 10.1034/J.1399-5618.2003.00024.X.
- Schildkraut, J. J. (1965). The Catecholamine Hypothesis Of Affective Disorders: A Review Of Supporting Evidence. *International journal of psychiatry*, 122, 509-522. doi: 10.1176/AJP.122.5.509.
- Schmaal, L., Hibar, D. P., Sämann, P. G., Hall, G. B., Baune, B. T., Jahanshad, N., Cheung, J. W., Erp, T. G. V., Bos, D., Ikram, M. A., Vernooij, M. W., Niessen, W. J., Tiemeier, H., Hofman, A., Wittfeld, K., Grabe, H. J., Janowitz, D., Bülow, R., Selonke, M., ... Veltman, D. J. (2016). Cortical abnormalities in adults and adolescents with major depression based on brain scans from 20 cohorts worldwide in the ENIGMA Major Depressive Disorder Working Group. *Molecular Psychiatry*, 22, 900-909. doi: 10.1038/mp.2016.60.
- Schneider, W. T., Vas, S., Nicol, A. U., & Morton, A. J. (2020). Characterizing Sleep Spindles in Sheep. *eNeuro*, 7. doi: 10.1523/ENEURO.0410-19.2020.
- Schwartz, M. D., & Kilduff, T. S. (2015). The Neurobiology of Sleep and Wakefulness. *Psychiatric Clinics of North America*, 38, 615-644. doi: 10.1016/J.PSC.2015.07.002.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 20, 11-21. doi: 10.1136/JNNP.20.1.11.
- Segal, R. A., & Greenberg, M. E. (1996). Intracellular Signaling Pathways Activated by Neuropathic Factors. *Annual Review of Neuroscience*, 19, 463-489. doi: 10.1146/ANNUREV.NE.19.030196.002335.
- Seibt, J., Richard, C. J., Sigl-Glöckner, J., Takahashi, N., Kaplan, D. I., Doron, G., Limoges, D. D., Bocklisch, C., & Larkum, M. E. (2017). Cortical dendritic activity correlates with spindle-rich oscillations during sleep in rodents. *Nature Communications*, 8, 1-13. doi: 10.1038/s41467-017-00735-w.
- Seminowicz, D. A., Mayberg, H. S., McIntosh, A. R., Goldapple, K., Kennedy, S., Segal, Z., & Rafi-Tari, S. (2004). Limbic-frontal circuitry in major depression: a path modeling metanalysis. *NeuroImage*, 22, 409-418. doi: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2004.01.015.
- Sendi, M. S., Waters, A. C., Tiruvadi, V., Riva-Posse, P., Crowell, A., Isbaine, F., Gale, J. T., Choi, K. S., Gross, R. E., Mayberg, H. S., & Mahmoudi, B. (2021). Intraoperative neural signals predict rapid antidepressant effects of deep brain stimulation. *Translational Psychiatry* 2021 11:1, 11, 1-7. doi: 10.1038/s41398-021-01669-0.
- Serra-Blasco, M., Radua, J., Soriano-Mas, C., Gómez-Benlloch, A., Porta-Casteràs, D., Carulla-Roig, M., Albajes-Eizaguirre, A., Arnone, D., Klauser, P., Canales-Rodríguez, E. J., Hilbert, K., Wise, T., Cheng, Y., Kandilarova, S., Mataix-Cols, D., Vieta, E., Via, E., & Cardoner, N. (2021). Structural brain correlates in major depression, anxiety disorders and post-traumatic stress disorder: A voxel-based morphometry meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 129, 269-281. doi: 10.1016/J.NEUBIOREV.2021.07.002.
- Seyfarth, E. A. (2006). Julius Bernstein (1839-1917): Pioneer neurobiologist and biophysicist. *Biological Cybernetics*, 94, 2-8. doi: 10.1007/S00422-005-0031-Y.
- Shannon, C. E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal*, 27, 379-423. doi: 10.1002/J.1538-7305.1948.TB01338.X.
- Shaw, A. D., Saxena, N., Jackson, L. E., Hall, J. E., Singh, K. D., & Muthukumaraswamy, S. D. (2015). Ketamine amplifies induced gamma frequency oscillations in the human cerebral cortex. *European Neuropsychopharmacology*, 25, 1136-1146. doi: 10.1016/J.EURONEURO.2015.04.012.
- Shephard, R. A., & Broadhurst, P. L. (1982). Hyponeophagia and arousal in rats: effects of diazepam, 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine, d-amphetamine and food deprivation. *Psychopharmacology*, 78, 368-372. doi: 10.1007/BF00433744.
- Shepherd, J. K., Grewal, S. S., Fletcher, A., Bill, D. J., & Dourish, C. T. (1994). Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated zero-maze as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology*, 116, 56-64. doi: 10.1007/BF02244871.
- Sherin, J. E., Elmquist, J. K., Torrealba, F., & Saper, C. B. (1998). Innervation of Histaminergic Tubero-mammillary Neurons by GABAergic and Galaninergic Neurons in the Ventrolateral Preoptic Nucleus of the Rat. *Journal of Neuroscience*, 18, 4705-4721. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-12-04705.1998.
- Shi, S. H., Hayashi, Y., Petralia, R. S., Zaman, S. H., Wenthold, R. J., Svoboda, K., & Malinow, R. (1999). Rapid Spine Delivery and Redistribution of AMPA Receptors After Synaptic NMDA Receptor Activation. *Science*, 284, 1811-1816. doi: 10.1126/SCIENCE.284.5421.1811.
- Shin, S. Y., Baek, N. J., Han, S. H., & Min, S. S. (2019). Chronic administration of ketamine ameliorates the anxiety- and aggressive-like behavior in adolescent mice induced by neonatal maternal separation. *The Korean journal of physiology and pharmacology : official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 23, 81-87. doi: 10.4196/KJPP.2019.23.1.81.
- Shirayama, Y., & Hashimoto, K. (2018). Lack of Antidepressant Effects of (2R,6R)-Hydroxynorketamine in a Rat Learned Helplessness Model: Comparison with (R)-Ketamine. *International Journal of Neuropsychy-*

- chopharmacology*, 21, 84-88. DOI: 10.1093/IJNP/PYX108.
- Shirayama, Y., Takahashi, M., Osone, F., Hara, A., & Okubo, T. (2017). Myo-inositol, Glutamate, and Glutamine in the Prefrontal Cortex, Hippocampus, and Amygdala in Major Depression. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, 2, 196-204. DOI: 10.1016/J.BPSC.2016.11.006.
- Si, X., Miguel-Hidalgo, J. J., O'Dwyer, G., Stockmeier, C. A., & Rajkowska, G. (2004). Age-Dependent Reductions in the Level of Glial Fibrillary Acidic Protein in the Prefrontal Cortex in Major Depression. *Neuropsychopharmacology*, 29, 2088-2096. DOI: 10.1038/sj.npp.1300525.
- Siegel, M., Donner, T. H., Oostenveld, R., Fries, P., & Engel, A. K. (2008). Neuronal synchronization along the dorsal visual pathway reflects the focus of spatial attention. *Neuron*, 60, 709-719. DOI: 10.1016/J.NEURON.2008.09.010.
- Siegle, G. J., Steinhauer, S. R., Thase, M. E., Stenger, V. A., & Carter, C. S. (2002). Can't shake that feeling: Event-related fMRI assessment of sustained amygdala activity in response to emotional information in depressed individuals. *Biological Psychiatry*, 51, 693-707. DOI: 10.1016/S0006-3223(02)01314-8.
- Siems, M., & Siegel, M. (2020). Dissociated neuronal phase- and amplitude-coupling patterns in the human brain. *NeuroImage*, 209, 116538. DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2020.116538.
- Silvestre, J. S., Nadal, R., Pallarés, M., & Ferré, N. (1997). Acute effects of ketamine in the holeboard, the elevated-plus maze, and the social interaction test in Wistar rats. *Depression and Anxiety*, 5, 29-33. DOI: 10.1002/(SICI)1520-6394(1997)5:1.
- Singh, J. B., Fedgchin, M., Daly, E., Xi, L., Melman, C., Bruecker, G. D., Tadic, A., Sienaert, P., Wiegand, F., Manji, H., Drevets, W. C., & Nueten, L. V. (2016). Intravenous Esketamine in Adult Treatment-Resistant Depression: A Double-Blind, Double-Randomization, Placebo-Controlled Study. *Biological Psychiatry*, 80, 424-431. DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.10.018.
- Sivakumaran, M. H., Mackenzie, A. K., Callan, I. R., Ainge, J. A., & O'Connor, A. R. (2018). The Discrimination Ratio derived from Novel Object Recognition tasks as a Measure of Recognition Memory Sensitivity, not Bias. *Scientific Reports*, 8, 1-12. DOI: 10.1038/s41598-018-30030-7.
- Slipczuk, L., Bekinschtein, P., Katche, C., Cammarota, M., Izquierdo, I., & Medina, J. H. (2009). BDNF Activates mTOR to Regulate GluR1 Expression Required for Memory Formation. *PLOS ONE*, 4, e6007. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0006007.
- Smart, O. L., Tiruvadi, V. R., & Mayberg, H. S. (2015). Multimodal approaches to define network oscillations in depression. *Biological psychiatry*, 77, 1061-1070. DOI: 10.1016/J.BIOPSYCH.2015.01.002.
- Smith, K. S., & Rudolph, U. (2012). Anxiety and depression: Mouse genetics and pharmacological approaches to the role of GABAA receptor subtypes. *Neuropharmacology*, 62, 54-62. DOI: 10.1016/J.NEUROPHARM.2011.07.026.
- Smith, L. I. (2002). *A tutorial on Principal Components Analysis*.
- Smyth, G. P., Stapleton, P. P., Freeman, T. A., Concannon, E. M., Mestre, J. R., Duff, M., Maddali, S., & Daly, J. M. (2004). Glucocorticoid pretreatment induces cytokine overexpression and nuclear factor KB activation in macrophages. *Journal of Surgical Research*, 116, 253-261. DOI: 10.1016/S0022-4804(03)00300-7.
- Soldatos, C. R. (1994). Insomnia in relation to depression and anxiety: Epidemiologic considerations. *Journal of Psychosomatic Research*, 38, 3-8. DOI: 10.1016/0022-3999(94)90130-9.
- Solmi, M., Radua, J., Olivola, M., Croce, E., Soardo, L., de Pablo, G. S., Shin, J. I., Kirkbride, J. B., Jones, P., Kim, J. H., Kim, J. Y., Carvalho, A. F., Seeman, M. V., Correll, C. U., & Fusar-Poli, P. (2022). Age at onset of mental disorders worldwide: large-scale meta-analysis of 192 epidemiological studies. *Molecular psychiatry*, 27, 281-295. DOI: 10.1038/S41380-021-01161-7.
- Sorrells, S. F., Caso, J. R., Munhoz, C. D., & Sapolsky, R. M. (2009). The Stressed CNS: When Glucocorticoids Aggravate Inflammation. *Neuron*, 64, 33-39. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.09.032.
- Spellman, T., Rigotti, M., Ahmari, S. E., Fusi, S., Gogos, J. A., & Gordon, J. A. (2015). Hippocampal-prefrontal input supports spatial encoding in working memory. *Nature*, 522, 309-314. DOI: 10.1038/nature14445.
- Spencer, K. M., Niznikiewicz, M. A., Nestor, P. G., Shenton, M. E., & McCarley, R. W. (2009). Left auditory cortex gamma synchronization and auditory hallucination symptoms in schizophrenia. *BMC neuroscience*, 10, 85. DOI: 10.1186/1471-2202-10-85.
- Sprengel, R. (2013). Ionotropic Glutamate Receptors. En D. W. Pfaff (Ed.), *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical* (pp. 59-80). Springer New York. DOI: 10.1007/978-1-4614-1997-6_4.
- Sprouse, J. S., & Aghajanian, G. K. (1987). Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT1A and 5-HT1B agonists. *Synapse*, 1, 3-9. DOI: 10.1002/SYN.890010103.
- Spruston, N. (2008). Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nature Reviews Neuroscience*, 9, 206-221. DOI: 10.1038/nrn2286.
- Stedenfeld, K. A., Clinton, S. M., Kerman, I. A., Akil, H., Watson, S. J., & Sved, A. F. (2011). Novelty-seeking behavior predicts vulnerability in a rodent model of depression. *Physiology and Behavior*, 103, 210-216. DOI: 10.1016/J.PHYSBEH.2011.02.001.
- Stefański, R., Palejko, W., Bidziński, A., Kostowski, W., & Plaźnik, A. (1993). Serotonergic innervation of the hippocampus and nucleus accumbens septi and the anxiolytic-like action of midazolam and 5-HT1A receptor agonists. *Neuropharmacology*, 32, 977-985. DOI: 10.1016/0028-3908(93)90062-8.
- Steiger, A., von Bardeleben, U., Herth, T., & Holsboer, F. (1989). Sleep EEG and nocturnal secretion of cortisol and growth hormone in male patients with endogenous depression before treatment and after recovery. *Journal of affective disorders*, 16, 189-195. DOI: 10.1016/0165-0327(89)90073-6.
- Steiger, A., & Kimura, M. (2010). Wake and sleep EEG provide biomarkers in depression. *Journal of Psy-*

- chiatric Research*, 44, 242-252. DOI: 10.1016/J.JPSYCHIRES.2009.08.013.
- Steinbusch, H. W. (1981). Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat—Cell bodies and terminals. *Neuroscience*, 6, 557-618. DOI: 10.1016/0306-4522(81)90146-9.
- Stekelenburg, J. J., Maes, J. P., Gool, A. R. V., Sitskoorn, M., & Vroomen, J. (2013). Deficient multisensory integration in schizophrenia: An event-related potential study. *Schizophrenia Research*, 147, 253-261. DOI: 10.1016/J.SCHRES.2013.04.038.
- Stephenson, R., Caron, A. M., Cassel, D. B., & Kostela, J. C. (2009). Automated analysis of sleep-wake state in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, 184, 263-274. DOI: 10.1016/J.JNEUMETH.2009.08.014.
- Steriade, M. (2006). Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience*, 137, 1087-1106. DOI: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2005.10.029.
- Steriade, M., Contreras, D., Dossi, R. C., & Nunez, A. (1993). The slow (<1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *Journal of Neuroscience*, 13, 3284-3299. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.13-08-03284.1993.
- Steriade, M., McCormick, D. A., & Sejnowski, T. J. (1993). Thalamocortical Oscillations in the Sleeping and Aroused Brain. *Science*, 262, 679-685. DOI: 10.1126/SCIENCE.8235588.
- Steriade, M., & Timofeev, I. (2003). Neuronal Plasticity in Thalamocortical Networks during Sleep and Waking Oscillations. *Neuron*, 37, 563-576. DOI: 10.1016/S0896-6273(03)00065-5.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., & Simon, P. (1985). The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, 85, 367-370. DOI: 10.1007/BF00428203.
- Stetler, C., & Miller, G. E. (2011). Depression and hypothalamic pituitary adrenal activation: A quantitative summary of four decades of research. *Psychosomatic Medicine*, 73, 114-126. DOI: 10.1097/PSY.0B013E31820AD12B.
- Steuer, R., Kurths, J., Daub, C. O., Weise, J., & Selbig, J. (2002). The mutual information: Detecting and evaluating dependencies between variables. *Bioinformatics*, 18, S231-S240. DOI: 10.1093/BIOINFORMATICS/18.SUPPL_2.S231.
- Stockmeier, C. A., Mahajan, G. J., Konick, L. C., Overholser, J. C., Jurjus, G. J., Meltzer, H. Y., Uylings, H. B., Friedman, L., & Rajkowska, G. (2004). Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biological Psychiatry*, 56, 640-650. DOI: 10.1016/j.biopsych.2004.08.022.
- Stockmeier, C. A., Shapiro, L. A., Dilley, G. E., Kolli, T. N., Friedman, L., & Rajkowska, G. (1998). Increase in Serotonin-1A Autoreceptors in the Mid-brain of Suicide Victims with Major Depression—Postmortem Evidence for Decreased Serotonin Activity. *Journal of Neuroscience*, 18, 7394-7401. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.18-18-07394.1998.
- Strange, B. A., Witter, M. P., Lein, E. S., & Moser, E. I. (2014). Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nature Reviews Neuroscience*, 15, 655-669. DOI: 10.1038/nrn3785.
- Straub, R. H., Cutolo, M., Buttgerit, F., & Pongratz, G. (2010). Energy regulation and neuroendocrine immune control in chronic-inflammatory diseases. *Journal of Internal Medicine*, 267, 543-560. DOI: 10.1111/J.1365-2796.2010.02218.X.
- Strekalova, T., & Steinbusch, H. (2009). Factors of reproducibility of anhedonia induction in a chronic stress depression model in mice. *NeuroMethods*, 42, 153-176. DOI: 10.1007/978-1-60761-303-9_9/COVER.
- Strelets, V. B., Garakh, Z. V., & Novototskii-Vlasov, V. Y. (2007). Comparative study of the gamma rhythm in normal conditions, during examination stress, and in patients with first depressive episode. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 37, 387-394. DOI: 10.1007/S11055-007-0025-4/METRICS.
- Stujenske, J. M., Likhtik, E., Topiwala, M. A., & Gordon, J. A. (2014). Fear and safety engage competing patterns of theta-gamma coupling in the basolateral amygdala. *Neuron*, 83, 919-933. DOI: 10.1016/J.NEURON.2014.07.026.
- Stukalin, Y., Lan, A., & Einat, H. (2020). Revisiting the validity of the mouse tail suspension test: Systematic review and meta-analysis of the effects of prototypic antidepressants. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 112, 39-47. DOI: 10.1016/J.NEUBIOREV.2020.01.034.
- Sturman, O., von Ziegler, L., Schläppi, C., Akyol, F., Privitera, M., Slominski, D., Grimm, C., Thieren, L., Zerbi, V., Grewe, B., & Bohacek, J. (2020). Deep learning-based behavioral analysis reaches human accuracy and is capable of outperforming commercial solutions. *Neuropsychopharmacology*, 45, 1942-1952. DOI: 10.1038/s41386-020-0776-y.
- Sun, J., & Nan, G. (2017). The extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway in neurological diseases: A potential therapeutic target. *International Journal of Molecular Medicine*, 39, 1338. DOI: 10.3892/IJMM.2017.2962.
- Sun, Y., Shi, L., Bao, Y., Sun, Y., Shi, J., & Lu, L. (2018). The bidirectional relationship between sleep duration and depression in community-dwelling middle-aged and elderly individuals: evidence from a longitudinal study. *Sleep Medicine*, 52, 221-229. DOI: 10.1016/J.SLEEP.2018.03.011.
- Sun, Z., Jia, L., Shi, D., He, Y., Ren, Y., Yang, J., & Ma, X. (2022). Deep brain stimulation improved depressive-like behaviors and hippocampal synapse deficits by activating the BDNF/mTOR signaling pathway. *Behavioural Brain Research*, 419, 113709. DOI: 10.1016/J.BBR.2021.113709.
- Surguladze, S., Brammer, M. J., Keedwell, P., Giampietro, V., Young, A. W., Travis, M. J., Williams, S. C., & Phillips, M. L. (2005). A differential pattern of neural response toward sad versus happy facial expressions in major depressive disorder. *Biological psychiatry*, 57, 201-209. DOI: 10.1016/J.BIOPSYCH.2004.10.028.
- Suslow, T., Konrad, C., Kugel, H., Rumstadt, D., Zwieterlood, P., Schöning, S., Ohrmann, P., Bauer, J., Pyka, M., Kersting, A., Arolt, V., Heindel, W., & Dannlowski, U. (2010). Automatic mood-congruent amygdala

- dala responses to masked facial expressions in major depression. *Biological psychiatry*, *67*, 155-160. DOI: [10.1016/J.BIOPSYCH.2009.07.023](https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2009.07.023).
- Sutton, M. A., Ito, H. T., Cressy, P., Kempf, C., Woo, J. C., & Schuman, E. M. (2006). Miniature Neurotransmission Stabilizes Synaptic Function via Tonic Suppression of Local Dendritic Protein Synthesis. *Cell*, *125*, 785-799. DOI: [10.1016/j.cell.2006.03.040](https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.040).
- Suzuki, K., & Monteggia, L. M. (2020). The role of eEF2 kinase in the rapid antidepressant actions of ketamine. *Advances in Pharmacology*, *89*, 79-99. DOI: [10.1016/BS.APHA.2020.04.005](https://doi.org/10.1016/BS.APHA.2020.04.005).
- Suzuki, K., Nosyreva, E., Hunt, K. W., Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2017). Effects of a ketamine metabolite on synaptic NMDAR function. *Nature*, *546*, E1-E3. DOI: [10.1038/nature22084](https://doi.org/10.1038/nature22084).
- Swaab, D. F., Bao, A. M., & Lucassen, P. J. (2005). The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*, *4*, 141-194. DOI: [10.1016/J.ARR.2005.03.003](https://doi.org/10.1016/J.ARR.2005.03.003).
- Szewczyk, B., Pochwat, B., Rafała, A., Palucha-Poniewiera, A., Domin, H., & Nowak, G. (2015). Activation of mTOR dependent signaling pathway is a necessary mechanism of antidepressant-like activity of zinc. *Neuropharmacology*, *99*, 517-526. DOI: [10.1016/J.NEUROPHARM.2015.08.026](https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2015.08.026).
- Szycik, G. R., Münte, T. F., Dillo, W., Mohammadi, B., Samii, A., Emrich, H. M., & Dietrich, D. E. (2009). Audiovisual integration of speech is disturbed in schizophrenia: An fMRI study. *Schizophrenia Research*, *110*, 111-118. DOI: [10.1016/J.SCHRES.2009.03.003](https://doi.org/10.1016/J.SCHRES.2009.03.003).
- Tabassum, S., Misrani, A., Huo, Q., Ahmed, A., Long, C., & Yang, L. (2022). Minocycline Ameliorates Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Neuroinflammation and Abnormal mPFC-HIPP Oscillations in Mice. *Molecular neurobiology*, *59*, 6874-6895. DOI: [10.1007/S12035-022-03018-8](https://doi.org/10.1007/S12035-022-03018-8).
- Tagliabata, G., Hogan, D., Zhang, W. R., & Dineley, K. T. (2009). Intermediate- and long-term recognition memory deficits in Tg2576 mice are reversed with acute calcineurin inhibition. *Behavioural Brain Research*, *200*, 95-99. DOI: [10.1016/J.BBR.2008.12.034](https://doi.org/10.1016/J.BBR.2008.12.034).
- Taha, E., Gildish, I., Gal-Ben-Ari, S., & Rosenblum, K. (2013). The role of eEF2 pathway in learning and synaptic plasticity. *Neurobiology of Learning and Memory*, *105*, 100-106. DOI: [10.1016/J.NLM.2013.04.015](https://doi.org/10.1016/J.NLM.2013.04.015).
- Tamura, M., Spellman, T. J., Rosen, A. M., Gogos, J. A., & Gordon, J. A. (2017). Hippocampal-prefrontal theta-gamma coupling during performance of a spatial working memory task. *Nature Communications* *2017* *8*:1, *8*, 1-9. DOI: [10.1038/s41467-017-02108-9](https://doi.org/10.1038/s41467-017-02108-9).
- Tang, J., Xue, W., Xia, B., Ren, L., Tao, W., Chen, C., Zhang, H., Wu, R., Wang, Q., Wu, H., Duan, J., & Chen, G. (2015). Involvement of normalized NMDA receptor and mTOR-related signaling in rapid antidepressant effects of Yueju and ketamine on chronically stressed mice. *Scientific Reports*, *5*, 1-13. DOI: [10.1038/srep13573](https://doi.org/10.1038/srep13573).
- Tang, X. H., Zhang, G. F., Xu, N., Duan, G. F., Jia, M., Liu, R., Zhou, Z. Q., Yang, J. J., & Yang, J. J. (2020). Extrasynaptic CaMKII is involved in the antidepressant effects of ketamine by downregulating GluN2B receptors in an LPS-induced depression model. *Journal of Neuroinflammation*, *17*, 1-19. DOI: [10.1186/S12974-020-01843-Z](https://doi.org/10.1186/S12974-020-01843-Z).
- Tanizaki, H. (2010). Power comparison of non-parametric tests: Small-sample properties from Monte Carlo experiments. *Journal of applied statistics*, *24*, 603-632. DOI: [10.1080/02664769723576](https://doi.org/10.1080/02664769723576).
- Tank, A. W., & Wong, D. L. (2015). Peripheral and Central Effects of Circulating Catecholamines. *Comprehensive Physiology*, *5*, 1-15. DOI: [10.1002/CPHY.C140007](https://doi.org/10.1002/CPHY.C140007).
- Thelen, C., Sens, J., Mauch, J., Pandit, R., & Pitychoutis, P. M. (2016). Repeated ketamine treatment induces sex-specific behavioral and neurochemical effects in mice. *Behavioural Brain Research*, *312*, 305-312. DOI: [10.1016/J.BBR.2016.06.041](https://doi.org/10.1016/J.BBR.2016.06.041).
- Thierry, B., Stéru, L., Simon, P., & Porsolt, R. D. (1986). The tail suspension test: ethical considerations. *Psychopharmacology*, *90*, 284-285. DOI: [10.1007/BF00181261](https://doi.org/10.1007/BF00181261).
- Tibshirani, R., Walther, G., & Hastie, T. (2001). Estimating the number of clusters in a data set via the gap statistic. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, *63*, 411-423. DOI: [10.1111/1467-9868.00293](https://doi.org/10.1111/1467-9868.00293).
- Tieges, Z., McGrath, A., Hall, R. J., & MacLullich, A. M. (2013). Abnormal level of arousal as a predictor of delirium and inattention: an exploratory study. *The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry*, *21*, 1244-1253. DOI: [10.1016/J.JAGP.2013.05.003](https://doi.org/10.1016/J.JAGP.2013.05.003).
- Timofeev, I., & Steriade, M. (1996). Low-frequency rhythms in the thalamus of intact-cortex and decorticated cats. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.6.4152>, *76*, 4152-4168. DOI: [10.1152/JN.1996.76.6.4152](https://doi.org/10.1152/JN.1996.76.6.4152).
- Torrence, C., & Compo, G. P. (1998). A Practical Guide to Wavelet Analysis. *Bulletin of the American Meteorological Society*, *79*, 61-78. DOI: [10.1175/1520-0477\(1998\)079](https://doi.org/10.1175/1520-0477(1998)079).
- Torres, D., Makarova, J., Ortuño, T., Benito, N., Makarov, V. A., & Herreras, O. (2019). Local and Volume-Conducted Contributions to Cortical Field Potentials. *Cerebral cortex*, *29*, 5234-5254. DOI: [10.1093/CERCOR/BHZ061](https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHZ061).
- Torres-Sanchez, S., Perez-Caballero, L., Mico, J. A., Celada, P., & Berrocoso, E. (2018). Effect of Deep Brain Stimulation of the ventromedial prefrontal cortex on the noradrenergic system in rats. *Brain Stimulation*, *11*, 222-230. DOI: [10.1016/j.brs.2017.10.003](https://doi.org/10.1016/j.brs.2017.10.003).
- Tort, A. B., Komorowski, R., Eichenbaum, H., & Kopell, N. (2010). Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. *Journal of neurophysiology*, *104*, 1195-1210. DOI: [10.1152/JN.00106.2010](https://doi.org/10.1152/JN.00106.2010).
- Tort, A. B., Komorowski, R. W., Manns, J. R., Kopell, N. J., & Eichenbaum, H. (2009). Theta-gamma coupling increases during the learning of item-context associations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*, 20942-20947. DOI: [10.1073/PNAS.0911331106](https://doi.org/10.1073/PNAS.0911331106).
- Touma, C., Fenzl, T., Ruschel, J., Palme, R., Holsboer, F., Kimura, M., & Landgraf, R. (2009). Rhythmicity in Mice Selected for Extremes in Stress Reactivity:

- Behavioural, Endocrine and Sleep Changes Resembling Endophenotypes of Major Depression. *PLOS ONE*, 4, e4325. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0004325.
- Towbin, H., Staehelin, T., & Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76, 4350-4354. doi: 10.1073/PNAS.76.9.4350.
- Traynelis, S. F., Wollmuth, L. P., McBain, C. J., Menniti, F. S., Vance, K. M., Ogden, K. K., Hansen, K. B., Yuan, H., Myers, S. J., & Dingledine, R. (2010). Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. *Pharmacological Reviews*, 62, 405-496. doi: 10.1124/PR.109.002451.
- Trenado, C., Pedroarena-Leal, N., Cif, L., Nitsche, M., & Ruge, D. (2018). Neural Oscillatory Correlates for Conditioning and Extinction of Fear. *Biomedicines*, 6, 49. doi: 10.3390/BIOMEDICINES6020049.
- Treves, A., & Rolls, E. T. (1994). Computational analysis of the role of the hippocampus in memory. *Hippocampus*, 4, 374-391. doi: 10.1002/HIPO.450040319.
- Troubat, R., Barone, P., Leman, S., Desmidt, T., Crescent, A., Atanasova, B., Brizard, B., Hage, W. E., Surget, A., Belzung, C., & Camus, V. (2021). Neuroinflammation and depression: A review. *European Journal of Neuroscience*, 53, 151-171. doi: 10.1111/EJN.14720.
- Tsigos, C., Kyrou, I., Kassi, E., & Chrousos, G. P. (2020). *Stress: Endocrine Physiology and Pathophysiology*. MDText.com, Inc.
- Tsubone, H., & Sawazaki, H. (1979). Electroencephalographic patterns and their alternating process in mice. *Nihon juigaku zasshi. The Japanese journal of veterinary science*, 41, 495-504. doi: 10.1292/JVMS1939.41.495.
- Tsuno, N., Besset, A., & Ritchie, K. (2005). Sleep and Depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 66, 19685.
- Tucker, L. B., & McCabe, J. T. (2021). Measuring Anxiety-Like Behaviors in Rodent Models of Traumatic Brain Injury. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 15, 682-695. doi: 10.3389/FNBEH.2021.682935.
- Turrigiano, G. G. (2008). The Self-Tuning Neuron: Synaptic Scaling of Excitatory Synapses. *Cell*, 135, 422-435. doi: 10.1016/J.CELL.2008.10.008.
- Uhlhaas, P. J., Linden, D. E., Singer, W., Haenschel, C., Lindner, M., Maurer, K., & Rodriguez, E. (2006). Dysfunctional long-range coordination of neural activity during Gestalt perception in schizophrenia. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26, 8168-8175. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2002-06.2006.
- Uhlhaas, P. J., Millard, I., Muetzelfeldt, L., Curran, H. V., & Morgan, C. J. (2007). Perceptual organization in ketamine users: preliminary evidence of deficits on night of drug use but not 3 days later. *Journal of psychopharmacology*, 21, 347-352. doi: 10.1177/0269881107077739.
- Uhlhaas, P. J., & Singer, W. (2006). Neural Synchrony in Brain Disorders: Relevance for Cognitive Dysfunction and Pathophysiology. *Neuron*, 52, 155-168. doi: 10.1016/J.NEURON.2006.09.020.
- Uhlhaas, P. J., & Singer, W. (2010). Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience* 2010 11:2, 11, 100-113. doi: 10.1038/nrn2774.
- Uhlhaas, P. J., & Singer, W. (2012). Neuronal Dynamics and Neuropsychiatric Disorders: Toward a Translational Paradigm for Dysfunctional Large-Scale Networks. *Neuron*, 75, 963-980. doi: 10.1016/J.NEURON.2012.09.004.
- Ulbrich, M. H., & Isacoff, E. Y. (2008). Rules of engagement for NMDA receptor subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 14163-14168. doi: 10.1073/PNAS.0802075105/SUPPL_FILE/SM1.MOV.
- Ulrich-Lai, Y. M., Figueiredo, H. F., Ostrander, M. M., Choi, D. C., Engeland, W. C., & Herman, J. P. (2006). Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 291, 965-973. doi: 10.1152/AJPENDO.00070.2006.
- Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 397-409. doi: 10.1038/nrn2647.
- Umar Saeed, S. M., Anwar, S. M., Majid, M., Awais, M., & Alnowami, M. (2018). Selection of Neural Oscillatory Features for Human Stress Classification with Single Channel EEG Headset. *BioMed Research International*, 2018. doi: 10.1155/2018/1049257.
- Uranova, N. A., Vostrikov, V. M., Orlovskaya, D. D., & Rachmanova, V. I. (2004). Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. *Schizophrenia Research*, 67, 269-275. doi: 10.1016/S0920-9964(03)00181-6.
- Vadovičová, K. (2014). Affective and cognitive prefrontal cortex projections to the lateral habenula in humans. *Frontiers in human neuroscience*, 8. doi: 10.3389/FNHUM.2014.00819.
- Vale, W., Rivier, C., Yang, L., Minick, S., & Guillemin, R. (1978). Effects of Purified Hypothalamic Corticotropin-Releasing Factor and Other Substances on the Secretion of Adrenocorticotropin and -Endorphin-Like Immunoactivities in Vitro. *Endocrinology*, 103, 1910-1915. doi: 10.1210/ENDO-103-5-1910.
- Valentino, R. J., & Foote, S. L. (1988). Corticotropin-releasing hormone increases tonic but not sensory-evoked activity of noradrenergic locus coeruleus neurons in unanesthetized rats. *Journal of Neuroscience*, 8, 1016-1025. doi: 10.1523/JNEUROSCI.08-03-01016.1988.
- Van De Werd, H. J., & Uylings, H. B. (2014). Comparison of (stereotactic) parcellations in mouse prefrontal cortex. *Brain Structure and Function*, 219, 433-459. doi: 10.1007/S00429-013-0630-7.
- Vanderwolf, C. H. (1969). Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 26, 407-418. doi: 10.1016/0013-4694(69)90092-3.

- van Dongen, P. A. (1981). The central noradrenergic transmission and the locus coeruleus: A review of the data, and their implications for neurotransmission and neuromodulation. *Progress in Neurobiology*, *16*, 117-143. doi: 10.1016/0301-0082(81)90009-5.
- Veerakumar, A., Challis, C., Gupta, P., Da, J., Upadhyay, A., Beck, S. G., & Berton, O. (2014). Antidepressant-like effects of cortical deep brain stimulation coincide with pro-neuroplastic adaptations of serotonin systems. *Biological psychiatry*, *76*, 203-212. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2013.12.009.
- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S* (Fourth) [ISBN 0-387-95457-0]. Springer.
- Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, *51*, 32-58. doi: 10.1002/SYN.10279.
- Vertes, R. P. (2005). Hippocampal theta rhythm: A tag for short-term memory. *Hippocampus*, *15*, 923-935. doi: 10.1002/HIPO.20118.
- Vgontzas, A. N., Bixler, E. O., Lin, H. M., Prolo, P., Mastorakos, G., Vela-Bueno, A., Kales, A., & Chrousos, G. P. (2001). Chronic Insomnia Is Associated with Nyctohemeral Activation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Clinical Implications. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *86*, 3787-3794. doi: 10.1210/JCEM.86.8.7778.
- Vila-Merkle, H., González-Martínez, A., Campos-Jiménez, R., Martínez-Ricós, J., Teruel-Martí, V., Blasco-Serra, A., Lloret, A., Celada, P., & Cervera-Ferri, A. (2021). The Oscillatory Profile Induced by the Anxiogenic Drug FG-7142 in the Amygdala-Hippocampal Network Is Reversed by Infralimbic Deep Brain Stimulation: Relevance for Mood Disorders. *Biomedicines*, *9*. doi: 10.3390/BIOMEDICINES9070783.
- Vila-Merkle, H., González-Martínez, A., Campos-Jiménez, R., Martínez-Ricós, J., Teruel-Martí, V., Lloret, A., Blasco-Serra, A., & Cervera-Ferri, A. (2023). Sex differences in amygdalohippocampal oscillations and neuronal activation in a rodent anxiety model and in response to infralimbic deep brain stimulation. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *17*. doi: 10.3389/FNBEH.2023.1122163.
- Villalobos, C., Maldonado, P. E., & Valdés, J. L. (2017). Asynchronous ripple oscillations between left and right hippocampi during slow-wave sleep. *PLOS ONE*, *12*, e0171304. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0171304.
- Vinck, M., Oostenveld, R., Wingerden, M. V., Battaglia, F., & Pennartz, C. M. (2011). An improved index of phase-synchronization for electrophysiological data in the presence of volume-conduction, noise and sample-size bias. *NeuroImage*, *55*, 1548-1565. doi: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2011.01.055.
- Vogt, B. A., & Paxinos, G. (2014). Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologues. *Brain structure and function*, *219*, 185-192. doi: 10.1007/S00429-012-0493-3.
- Vollenweider, F. X., Leenders, K. L., Øye, I., Hell, D., & Angst, J. (1997). Differential psychopathology and patterns of cerebral glucose utilisation produced by (S)- and (R)-ketamine in healthy volunteers using positron emission tomography (PET). *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *7*, 25-38. doi: 10.1016/S0924-977X(96)00042-9.
- Voort, J. L. V., Ballard, E. D., Luckenbaugh, D. A., Bernert, R. A., Richards, E. M., Niciu, M. J., Park, L. T., Machado-Vieira, R., Duncan, W. C., & Zarate, C. A. (2017). Antisuicidal Response Following Ketamine Infusion Is Associated With Decreased Nighttime Wakefulness in Major Depressive Disorder and Bipolar Disorder. *The Journal of clinical psychiatry*, *78*, 1068-1074. doi: 10.4088/JCP.15M10440.
- Vyas, A., Jadhav, S., & Chattarji, S. (2006). Prolonged behavioral stress enhances synaptic connectivity in the basolateral amygdala. *Neuroscience*, *143*, 387-393. doi: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2006.08.003.
- Vyklicky, V., Korinek, M., Smejkalova, T., Balik, A., Krausova, B., Kaniakova, M., Lichnerova, K., Cerny, J., Krusek, J., Dittert, I., Horak, M., & Vyklicky, L. (2014). Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiological research*, *63*, 191-203. doi: 10.33549/PHYSIOLRES.932678.
- Wackerhagen, C., Veer, I. M., Erk, S., Mohnke, S., Lett, T. A., Wüstenberg, T., Romanczuk-Seiferth, N. Y., Schwarz, K., Schweiger, J. I., Tost, H., Meyer-Lindenberg, A., Heinz, A., & Walter, H. (2020). Amygdala functional connectivity in major depression - disentangling markers of pathology, risk and resilience. *Psychological medicine*, *50*, 2740-2750. doi: 10.1017/S0033291719002885.
- Wallis, J. D. (2007). Orbitofrontal Cortex and Its Contribution to Decision-Making. *Annual review of neuroscience*, *30*, 31-56. doi: 10.1146/ANNUREV.NEURO.30.051606.094334.
- Wallis, J. D. (2011). Cross-species studies of orbitofrontal cortex and value-based decision-making. *Nature Neuroscience*, *15*, 13-19. doi: 10.1038/nn.2956.
- Wally, M. E., Nomoto, M., Abdou, K., Murayama, E., & Inokuchi, K. (2022). A short-term memory trace persists for days in the mouse hippocampus. *Communications Biology*, *5*, 1-11. doi: 10.1038/s42003-022-04167-1.
- Wang, C., Stratton, P. G., Sah, P., & Marek, R. (2022). Theta coupling within the medial prefrontal cortex regulates fear extinction and renewal. *iScience*, *25*, 105036. doi: 10.1016/J.ISCI.2022.105036.
- Wang, J. Q., & Mao, L. (2019). The ERK Pathway: Molecular Mechanisms and Treatment of Depression. *Molecular neurobiology*, *56*, 6197-6205. doi: 10.1007/S12035-019-1524-3.
- Wang, W., Lu, Y., Xue, Z., Li, C., Wang, C., Zhao, X., Zhang, J., Wei, X., Chen, X., Cui, W., Wang, Q., & Zhou, W. (2015). Rapid-acting antidepressant-like effects of acetyl-L-carnitine mediated by PI3K/AKT/BDNF/VGF signaling pathway in mice. *Neuroscience*, *285*, 281-291. doi: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2014.11.025.
- Wang, Y., Li, R., Zhang, M.-Q., Zhang, Z., Qu, W., & Huang, Z. (2015). The Neurobiological Mechanisms and Treatments of REM Sleep Disturbances in Depression. *Current Neuropharmacology*, *13*, 543-553. doi: 10.2174/1570159X13666150310002540.
- Wang, Z. J., Yu, B., Zhang, X. Q., Sheng, Z. F., Li, S. J., Huang, Y. L., Cao, Q., Cui, X. Y., Cui, S. Y., &

- Zhang, Y. H. (2014). Correlations between depression behaviors and sleep parameters after repeated corticosterone injections in rats. *Acta Pharmacologica Sinica* 2014 35:7, 35, 879-888. DOI: 10.1038/aps.2014.44.
- Waters, P., & McCormick, C. M. (2011). Caveats of chronic exogenous corticosterone treatments in adolescent rats and effects on anxiety-like and depressive behavior and hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function. *Biology of Mood and Anxiety Disorders* 2011 1:1, 1, 1-13. DOI: 10.1186/2045-5380-1-4.
- Webster, J. F., Lecca, S., & Wozny, C. (2021). Inhibition Within the Lateral Habenula—Implications for Affective Disorders. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 15, 291. DOI: 10.3389/FNBEH.2021.786011.
- Wei, Y., Chang, L., & Hashimoto, K. (2020). A historical review of antidepressant effects of ketamine and its enantiomers. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 190, 172870. DOI: 10.1016/J.PBB.2020.172870.
- Weibel, L., Follenius, M., Spiegel, K., Ehrhart, J., & Brandenberger, G. (1995). Comparative Effect of Night and Daytime Sleep on the 24-Hour Cortisol Secretory Profile. *Sleep*, 18, 549-556. DOI: 10.1093/SLEEP/18.7.549.
- Weinberger, M., Mahant, N., Hutchison, W. D., Lozano, A. M., Moro, E., Hodaie, M., Lang, A. E., & Dostrovsky, J. O. (2006). Beta oscillatory activity in the subthalamic nucleus and its relation to dopaminergic response in Parkinson's disease. *Journal of Neurophysiology*, 96, 3248-3256. DOI: 10.1152/JN.00697.2006.
- Weiss, S. M., Wadsworth, G., Fletcher, A., & Dourish, C. T. (1998). Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze models of anxiety. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 23, 265-271. DOI: 10.1016/S0149-7634(98)00027-X.
- Weiss, T., & Roldán, E. (1964). Comparative study of sleep cycles in rodents. *Experientia*, 20, 280-281. DOI: 10.1007/BF02151809.
- Weitz, E. S., Hollon, S. D., Twisk, J., Straten, A. V., Huijbers, M. J., David, D., DeRubeis, R. J., Dimidjian, S., Dunlop, B. W., Cristea, I. A., Faramarzi, M., Hegerl, U., Jarrett, R. B., Kheirkhah, F., Kennedy, S. H., Mergl, R., Miranda, J., Mohr, D. C., Rush, A. J., ... Cuijpers, P. (2015). Baseline Depression Severity as Moderator of Depression Outcomes Between Cognitive Behavioral Therapy vs Pharmacotherapy: An Individual Patient Data Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, 72, 1102-1109. DOI: 10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2015.1516.
- Welch, P. D. (1967). The Use of Fast Fourier Transform for the Estimation of Power Spectra: A Method Based on Time Averaging Over Short, Modified Periodograms. *IEEE Transactions on Audio and Electroacoustics*, 15, 70-73. DOI: 10.1109/TAU.1967.1161901.
- Werd, H. J. V. D., Rajkowska, G., Evers, P., & Uylings, H. B. (2010). Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse. *Brain structure and function*, 214, 339-353. DOI: 10.1007/S00429-010-0247-Z.
- Weston, R. G., Fitzgerald, P. J., & Watson, B. O. (2021). Repeated Dosing of Ketamine in the Forced Swim Test: Are Multiple Shots Better Than One? *Frontiers in Psychiatry*, 12, 642. DOI: 10.3389/FPSYT.2021.659052.
- Wheeler, R. E., Davidson, R. J., & Tomarken, A. J. (1993). Frontal brain asymmetry and emotional reactivity: A biological substrate of affective style. *Psychophysiology*, 30, 82-89. DOI: 10.1111/J.1469-8986.1993.TB03207.X.
- Whishaw, I. Q., & Vanderwolf, C. H. (1973). Hippocampal EEG and behavior: Change in amplitude and frequency of RSA (Theta rhythm) associated with spontaneous and learned movement patterns in rats and cats. *Behavioral Biology*, 8, 461-484. DOI: 10.1016/S0091-6773(73)80041-0.
- White, P. F., Ham, J., Way, W. L., & Trevor, A. J. (1980). Pharmacology of ketamine isomers in surgical patients. *Anesthesiology*, 52, 231-239. DOI: 10.1097/0000542-198003000-00008.
- White, R. S., & Siegel, S. J. (2016). Cellular and circuit models of increased resting-state network gamma activity in schizophrenia. *Neuroscience*, 321, 66-76. DOI: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.11.011.
- Wichniak, A., Wierzbicka, A., & Jernajczyk, W. (2012). Sleep and Antidepressant Treatment. *Current Pharmaceutical Design*, 18, 5802-5817. DOI: 10.2174/138161212803523608.
- Wichniak, A., Wierzbicka, A., & Jernajczyk, W. (2013). Sleep as a biomarker for depression. *International review of psychiatry*, 25, 632-645. DOI: 10.3109/09540261.2013.812067.
- Wichniak, A., Wierzbicka, A., Wałęcka, M., & Jernajczyk, W. (2017). Effects of Antidepressants on Sleep. *Current Psychiatry Reports*, 19, 1-7. DOI: 10.1007/S11920-017-0816-4.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Wienbruch, C., Moratti, S., Elbert, T., Vogel, U., Fehr, T., Kissler, J., Schiller, A., & Rockstroh, B. (2003). Source distribution of neuromagnetic slow wave activity in schizophrenic and depressive patients. *Clinical Neurophysiology*, 114, 2052-2060. DOI: 10.1016/S1388-2457(03)00210-4.
- Wierzynski, C. M., Lubenov, E. V., Gu, M., & Siapas, A. G. (2009). State-Dependent Spike-Timing Relationships between Hippocampal and Prefrontal Circuits during Sleep. *Neuron*, 61, 587-596. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.01.011.
- Will, T. R., Proaño, S. B., Thomas, A. M., Kunz, L. M., Thompson, K. C., Ginnari, L. A., Jones, C. H., Lucas, S. C., Reavis, E. M., Dorris, D. M., & Meitzen, J. (2017). Problems and Progress regarding Sex Bias and Omission in Neuroscience Research. *eNeuro*, 4. DOI: 10.1523/ENEURO.0278-17.2017.
- Wilson, C., Kercher, M., Quinn, B., Murphy, A., Fiegel, C., & McLaurin, A. (2007). Effects of age and sex on ketamine-induced hyperactivity in rats. *Physiology and Behavior*, 91, 202-207. DOI: 10.1016/J.PHYSBEH.2007.02.010.
- Wilson, R. S., Yung, A. R., & Morrison, A. P. (2020). Comorbidity rates of depression and anxiety in first episode psychosis: A systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia Research*, 216, 322-329. DOI: 10.1016/J.SCHRES.2019.11.035.

- Wilson, S. J., Bailey, J. E., Alford, C., Weinstein, A., & Nutt, D. J. (2002). Effects of 5 weeks of administration of fluoxetine and dothiepin in normal volunteers on sleep, daytime sedation, psychomotor performance and mood. *Journal of psychopharmacology*, *16*, 321-331. doi: 10.1177/026988110201600406.
- Wilson, S. J., Bailey, J. E., Rich, A. S., Adrover, M., Potokar, J., & Nutt, D. J. (2004). Using sleep to evaluate comparative serotonergic effects of paroxetine and citalopram. *European Neuropsychopharmacology*, *14*, 367-372. doi: 10.1016/j.euroneuro.2003.11.004.
- Wirtshafter, D., Asin, K. E., & Pitzer, M. R. (1994). Dopamine agonists and stress produce different patterns of Fos-like immunoreactivity in the lateral habenula. *Brain Research*, *633*, 21-26. doi: 10.1016/0006-8993(94)91517-2.
- Wohleb, E. S., Terwilliger, R., Duman, C. H., & Duman, R. S. (2018). Stress Induced Neuronal Colony Stimulating Factor 1 Provokes Microglia Mediated Neuronal Remodeling and Depressive like Behavior. *Biological Psychiatry*, *83*, 38-49. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.05.026.
- Won, G. H., Kim, J. W., Choi, T. Y., Lee, Y. S., Min, K. J., & Seol, K. H. (2018). Theta-phase gamma-amplitude coupling as a neurophysiological marker in neuroleptic-naive schizophrenia. *Psychiatry Research*, *260*, 406-411. doi: 10.1016/J.PSYCHRES.2017.12.021.
- Woodruff, G. N., Foster, A. C., Gill, R., Kemp, J. A., Wong, E. H., & Iversen, L. L. (1987). The interaction between MK-801 and receptors for n-methyl-D-aspartate: Functional consequences. *Neuropharmacology*, *26*, 903-909. doi: 10.1016/0028-3908(87)90068-2.
- Wree, A., Zilles, K., & Schleicher, A. (1983). A quantitative approach to cytoarchitectonics. VIII. The areal pattern of the cortex of the albino mouse. *Anatomy and embryology*, *166*, 333-353. doi: 10.1007/BF00305922.
- Wright, C. E., Strike, P. C., Brydon, L., & Steptoe, A. (2005). Acute inflammation and negative mood: Mediation by cytokine activation. *Brain, Behavior, and Immunity*, *19*, 345-350. doi: 10.1016/J.BBI.2004.10.003.
- Wright, K. N., & Kabbaj, M. (2018). Sex differences in sub-anesthetic ketamine's antidepressant effects and abuse liability. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, *23*, 36-41. doi: 10.1016/J.COBEHA.2018.02.001.
- Wu, H., Lu, D., Jiang, H., Xiong, Y., Qu, C., Li, B., Mahmood, A., Zhou, D., & Chopp, M. (2008). Simvastatin-Mediated Upregulation of VEGF and BDNF, Activation of the PI3K/Akt Pathway, and Increase of Neurogenesis Are Associated with Therapeutic Improvement after Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, *25*, 130-139. doi: 10.1089/NEU.2007.0369.
- Wu, J. L., Haberman, R. P., Gallagher, M., & Koh, M. T. (2020). Probing for Conditioned Hallucinations Through Neural Activation in a Ketamine Mouse Model of Schizophrenia. *Neuroscience Bulletin*, *36*, 937-941. doi: 10.1007/S12264-020-00507-5.
- Wu, Z., Xiao, L., Wang, H., & Wang, G. (2021). Neurogenic hypothesis of positive psychology in stress induced depression: Adult hippocampal neurogenesis, neuroinflammation, and stress resilience. *International Immunopharmacology*, *97*, 107653. doi: 10.1016/J.INTIMP.2021.107653.
- Wyatt, R. J., Fram, D. H., Kupfer, D. J., & Snyder, F. (1971). Total Prolonged Drug-Induced REM Sleep Suppression in Anxious-Depressed Patients. *Archives of General Psychiatry*, *24*, 145-155. doi: 10.1001/ARCHPSYC.1971.01750080049007.
- Xiong, Z., Fujita, Y., Zhang, K., Pu, Y., Chang, L., Ma, M., Chen, J., & Hashimoto, K. (2019). Beneficial effects of (R)-ketamine, but not its metabolite (2R,6R)-hydroxynorketamine, in the depression-like phenotype, inflammatory bone markers, and bone mineral density in a chronic social defeat stress model. *Behavioural Brain Research*, *368*, 111904. doi: 10.1016/J.BBR.2019.111904.
- Xue, M., Atallah, B. V., & Scanziani, M. (2014). Equalizing excitation-inhibition ratios across visual cortical neurons. *Nature*, *511*, 596-600. doi: 10.1038/NATURE13321.
- Yadav, M., Dhingra, M. S., & Parle, M. (2017). Protective effect of Brassica oleracea juice against Ketamine-induced stereotypic behaviours in mice. *Journal of Medicinal Plants Studies*, *5*, 200-204.
- Yadav, M., Parle, M., Jindal, D. K., & Dhingra, S. (2018). Protective effects of stigmasterol against ketamine-induced psychotic symptoms: Possible behavioral, biochemical and histopathological changes in mice. *Pharmacological Reports*, *70*, 591-599. doi: 10.1016/J.PHAREP.2018.01.001.
- Yamaguchi, Y. (2003). A theory of hippocampal memory based on theta phase precession. *Biological Cybernetics*, *89*, 1-9. doi: 10.1007/S00422-003-0415-9/METRICS.
- Yang, C., Shirayama, Y., Zhang, J. C., Ren, Q., Yao, W., Ma, M., Dong, C., & Hashimoto, K. (2015). R-ketamine: a rapid-onset and sustained antidepressant without psychotomimetic side effects. *Translational Psychiatry*, *5*, e632-e632. doi: 10.1038/tp.2015.136.
- Yang, C., Hu, Y. M., Zhou, Z. Q., Zhang, G. F., & Yang, J. J. (2013). Acute administration of ketamine in rats increases hippocampal BDNF and mTOR levels during forced swimming test. *Uppsala Journal of Medical Sciences*, *118*, 3-8. doi: 10.3109/03009734.2012.724118.
- Yang, C., Ren, Q., Qu, Y., Zhang, J. C., Ma, M., Dong, C., & Hashimoto, K. (2018). Mechanistic Target of Rapamycin-Independent Antidepressant Effects of (R)-Ketamine in a Social Defeat Stress Model. *Biological Psychiatry*, *83*, 18-28. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.05.016.
- Yang, Y., Cui, Y., Sang, K., Dong, Y., Ni, Z., Ma, S., & Hu, H. (2018). Ketamine blocks bursting in the lateral habenula to rapidly relieve depression. *Nature*, *554*, 317-322. doi: 10.1038/nature25509.
- Yang, Y., & Wang, J. Z. (2017). From structure to behavior in basolateral amygdala-hippocampus circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, *11*, 86. doi: 10.3389/FNCIR.2017.00086.
- Yang, Y., Wang, Z. H., Jin, S., Gao, D., Liu, N., Chen, S. P., Zhang, S., Liu, Q., Liu, E., Wang, X., Liang, X., Wei, P., Li, X., Li, Y., Yue, C., Li, H. L., Wang, Y. L., Wang, Q., Ke, D., ... Wang, J. Z. (2016). Opposite monosynaptic scaling of BLP-vCA1 inputs governs hopefulness- and helplessness-modulated spa-

- tial learning and memory. *Nature Communications*, 7, 1-14. DOI: [10.1038/ncomms11935](https://doi.org/10.1038/ncomms11935).
- Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A., & Doron, R. (2015). The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *Journal of visualized experiments : JoVE*, 2015. DOI: [10.3791/52587](https://doi.org/10.3791/52587).
- Ye, T., Bartlett, M. J., Schmit, M. B., Sherman, S. J., Falk, T., & Cowen, S. L. (2018). Ten-Hour Exposure to Low-Dose Ketamine Enhances Corticostriatal Cross-Frequency Coupling and Hippocampal Broad-Band Gamma Oscillations. *Frontiers in Neural Circuits*, 12, 61. DOI: [10.3389/FNCIR.2018.00061](https://doi.org/10.3389/FNCIR.2018.00061).
- Yener, G. G., & Başar, E. (2013). Brain oscillations as biomarkers in neuropsychiatric disorders: following an interactive panel discussion and synopsis. *Supplements to Clinical neurophysiology*, 62, 343-363. DOI: [10.1016/B978-0-7020-5307-8.00016-8](https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5307-8.00016-8).
- Yoshii, A., & Constantine-Paton, M. (2007). BDNF induces transport of PSD-95 to dendrites through PI3K-AKT signaling after NMDA receptor activation. *Nature Neuroscience*, 10, 702-711. DOI: [10.1038/nn1903](https://doi.org/10.1038/nn1903).
- Yoshimasu, K., Kiyohara, C., & Miyashita, K. (2008). Suicidal risk factors and completed suicide: meta-analyses based on psychological autopsy studies. *Environmental health and preventive medicine*, 13, 243-256. DOI: [10.1007/S12199-008-0037-X](https://doi.org/10.1007/S12199-008-0037-X).
- Young, E. A., Abelson, J., & Lightman, S. L. (2004). Cortisol pulsatility and its role in stress regulation and health. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 25, 69-76. DOI: [10.1016/J.YFRNE.2004.07.001](https://doi.org/10.1016/J.YFRNE.2004.07.001).
- Zanos, P., & Gould, T. D. (2018). Mechanisms of ketamine action as an antidepressant. *Molecular Psychiatry*, 23, 801-811. DOI: [10.1038/mp.2017.255](https://doi.org/10.1038/mp.2017.255).
- Zanos, P., Highland, J. N., Stewart, B. W., Georgiou, P., Jenne, C. E., Lovett, J., Morris, P. J., Thomas, C. J., Moaddel, R., Zarate, C. A., & Gould, T. D. (2019). (2R,6R)-hydroxynorketamine exerts mGlu2 receptor-dependent antidepressant actions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116, 6441-6450. DOI: [10.1073/PNAS.1819540116](https://doi.org/10.1073/PNAS.1819540116).
- Zanos, P., Moaddel, R., Morris, P. J., Georgiou, P., Fischell, J., Elmer, G. I., Alkondis, M., Yuan, P., Pribut, H. J., Singh, N. S., Dossou, K. S., Fang, Y., Huang, X. P., Mayo, C. L., Wainer, I. W., Albuquerque, E. X., Thompson, S. M., Thomas, C. J., Zarate, C. A., & Gould, T. D. (2016). NMDAR inhibition-independent antidepressant actions of ketamine metabolites. *Nature*, 533, 481-486. DOI: [10.1038/nature17998](https://doi.org/10.1038/nature17998).
- Zanos, P., Moaddel, R., Morris, P. J., Riggs, L. M., Highland, J. N., Georgiou, P., Pereira, E. F., Albuquerque, E. X., Thomas, C. J., Zarate, C. A., & Gould, T. D. (2018). Ketamine and Ketamine Metabolite Pharmacology: Insights into Therapeutic Mechanisms. *Pharmacological Reviews*, 70, 621-660. DOI: [10.1124/PR.117.015198](https://doi.org/10.1124/PR.117.015198).
- Zarate, C. A., Brutsche, N., Laje, G., Luckenbaugh, D. A., Venkata, S. L., Ramamoorthy, A., Moaddel, R., & Wainer, I. W. (2012). Relationship of ketamine's plasma metabolites with response, diagnosis, and side effects in major depression. *Biological Psychiatry*, 72, 331-338. DOI: [10.1016/j.biopsych.2012.03.004](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.03.004).
- Zavorotnyy, M., Zöllner, R., Schulte-Güstenberg, L. R., Wulff, L., Schöning, S., Dannowski, U., Kugel, H., Arolt, V., & Konrad, C. (2018). Low left amygdala volume is associated with a longer duration of unipolar depression. *Journal of neural transmission*, 125, 229-238. DOI: [10.1007/S00702-017-1811-Y](https://doi.org/10.1007/S00702-017-1811-Y).
- Zhang, H., & Jacobs, J. (2015). Traveling Theta Waves in the Human Hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 35, 12477. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.5102-14.2015](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5102-14.2015).
- Zhang, K., Fujita, Y., & Hashimoto, K. (2018). Lack of metabolism in (R)-ketamine's antidepressant actions in a chronic social defeat stress model. *Scientific Reports*, 8, 1-8. DOI: [10.1038/s41598-018-22449-9](https://doi.org/10.1038/s41598-018-22449-9).
- Zhang, M., Spencer, H. F., Berman, R. Y., Radford, K. D., & Choi, K. H. (2021). Effects of subanesthetic intravenous ketamine infusion on neuroplasticity-related proteins in male and female Sprague-Dawley rats. *IBRO Neuroscience Reports*, 11, 42-51. DOI: [10.1016/J.IBNEUR.2021.06.005](https://doi.org/10.1016/J.IBNEUR.2021.06.005).
- Zhang, W. H., Zhang, J. Y., Holmes, A., & Pan, B. X. (2021). Amygdala Circuit Substrates for Stress Adaptation and Adversity. *Biological Psychiatry*, 89, 847-856. DOI: [10.1016/J.BIOPSYCH.2020.12.026](https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2020.12.026).
- Zhang, W., Liu, W., Liu, S., Su, F., Kang, X., Ke, Y., & Ming, D. (2023). Altered fronto-central theta-gamma coupling in major depressive disorder during auditory steady-state responses. *Clinical Neurophysiology*, 146, 65-76. DOI: [10.1016/J.CLINPH.2022.11.013](https://doi.org/10.1016/J.CLINPH.2022.11.013).
- Zhang, Y., Pan, X., Wang, R., & Sakagami, M. (2016). Functional connectivity between prefrontal cortex and striatum estimated by phase locking value. *Cognitive neurodynamics*, 10, 245-254. DOI: [10.1007/S11571-016-9376-2](https://doi.org/10.1007/S11571-016-9376-2).
- Zhang, Y., Yoshida, T., Katz, D. B., & Lisman, J. E. (2012). NMDAR antagonist action in thalamus imposes delta oscillations on the hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 107, 3181-3189. DOI: [10.1152/JN.00072.2012](https://doi.org/10.1152/JN.00072.2012).
- Zhang, Z., Zhang, J. F., Li, J., Zhang, J., Chen, L., Li, Y., & Guo, G. (2020). Ketamine Regulates Phosphorylation of CRMP2 To Mediate Dendritic Spine Plasticity. *Journal of Molecular Neuroscience*, 70, 353-364. DOI: [10.1007/S12031-019-01419-4/FIGURES/7](https://doi.org/10.1007/S12031-019-01419-4/FIGURES/7).
- Zhao, Y., & Sun, L. (2008). Antidepressants modulate the in vitro inhibitory effects of propofol and ketamine on norepinephrine and serotonin transporter function. *Journal of Clinical Neuroscience*, 15, 1264-1269. DOI: [10.1016/j.jocn.2007.11.007](https://doi.org/10.1016/j.jocn.2007.11.007).
- Zhao, Y. Y., Li, J. T., Wang, X. D., Li, Y. H., Huang, R. H., Su, Y. A., & Si, T. M. (2013). Neonatal MK-801 treatment differentially alters the effect of adolescent or adult MK-801 challenge on locomotion and PPI in male and female rats. *Journal of psychopharmacology*, 27, 845-853. DOI: [10.1177/0269881113497613](https://doi.org/10.1177/0269881113497613).
- Zhou, W., Wang, N., Yang, C., Li, X. M., Zhou, Z. Q., & Yang, J. J. (2014). Ketamine-induced antidepressant effects are associated with AMPA receptor-mediated upregulation of mTOR and BDNF in rat hippocampus and prefrontal cortex. *European Psychiatry*, 29, 419-423. DOI: [10.1016/J.EURPSY.2013.10.005](https://doi.org/10.1016/J.EURPSY.2013.10.005).

- Zhou, X., Lv, X., Zhang, L., Yan, J., Hu, R., Sun, Y., Xi, S., & Jiang, H. (2020). Ketamine promotes the neural differentiation of mouse embryonic stem cells by activating mTOR. *Molecular Medicine Reports*, *21*, 2443-2451. DOI: [10.3892/MMR.2020.11043/HTML](https://doi.org/10.3892/MMR.2020.11043).
- Zhu, S., & Gouaux, E. (2017). Structure and symmetry inform gating principles of ionotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology*, *112*, 11-15. DOI: [10.1016/J.NEUROPHARM.2016.08.034](https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2016.08.034).
- Zou, X., Patterson, T. A., Sadovova, N., Twaddle, N. C., Doerge, D. R., Zhang, X., Fu, X., Hanig, J. P., Paule, M. G., Slikker, W., & Wang, C. (2009). Potential Neurotoxicity of Ketamine in the Developing Rat Brain. *Toxicological Sciences*, *108*, 149-158. DOI: [10.1093/TOXSCI/KFN270](https://doi.org/10.1093/TOXSCI/KFN270).
- Zuchowicz, U., Wozniak-Kwasniewska, A., Szekely, D., Olejarczyk, E., & David, O. (2019). EEG phase synchronization in persons with depression subjected to transcranial magnetic stimulation. *Frontiers in Neuroscience*, *13*, 1037. DOI: [10.3389/FNINS.2018.01037](https://doi.org/10.3389/FNINS.2018.01037).
- Zukin, S. R., & Javitt, D. C. (1989). Mechanisms of phencyclidine (PCP)-n-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor interaction: implications for drug abuse research. *NIDA research monograph*, *95*, 247-254.

ANEXOS

Código utilizado para la clasificación de los estados del animal (MATLAB)

Carga del registro electrofisiológico y sustitución de la señal original de HPCd por su ICA

```

1 LCN_openrecording
2 load('ICA_Raton_23_21dias'); %Carga de la matriz que contiene los componentes principales de la señal.
3 recs_ica.channels = recs_ica.channels'; %Transposición de la matriz.
4 hpc = smr_LFP(file,1); %Creación de la estructura que contendrá los datos del HPCd.
5 emg = smr_LFP(file,2); %Creación de la estructura que contendrá los datos del EMG.
6 hpc.data = recs_ica.channels(:,1); %Sustitución de la señal original de HPCd por su componente principal.

```

Normalización de las señales

```

7 hpc.data = zscore(hpc.data); %Transformación a puntuación Z (Media 0, Desviación típica  $\pm 1$ ).
8 emg.data = zscore(emg.data); %Transformación a puntuación Z. (Media 0, Desviación típica  $\pm 1$ ).

```

Eliminación de la señal eléctrica (50 Hz)

```

9 hpc = notch_filter50 (hpc);
10 emg = notch_filter50 (emg);

```

Disminución de la frecuencia de muestreo

```

11 hpc = low_sampling(hpc,2); %La frecuencia de muestreo se reduce a la mitad.
12 emg = low_sampling(emg,10); %La frecuencia de muestreo se reduce 10 veces.

```

Duración total del registro y número de ventanas

```

13 mintime = 0; %Tiempo de inicio del registro.
14 maxtime = floor(length(hpc.data)/hpc.fs); %Tiempo máximo del registro.
15 window = 5; %Tamaño de la ventana.
16 tramos = floor((maxtime-mintime)/window); %Número de ventanas totales que habrá en el registro.

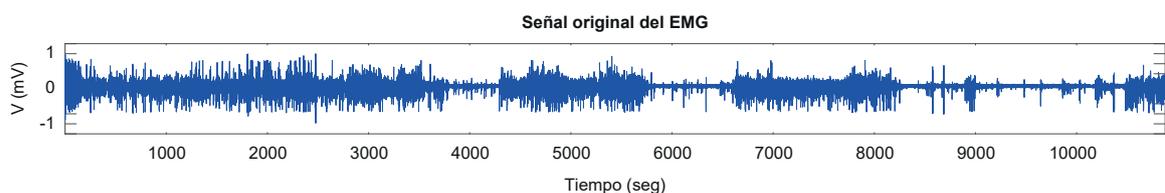
```

Representación de la señal del EMG

```

17 figure;
18 plot_signal(emg);

```



Cálculo de la amplitud instantánea del EMG

```

19 emgs = segment_LFP(emg, [mintime maxtime]); %Definimos el tamaño de la ventana del EMG sobre la
    ↪ que se calculará la amplitud instantánea.

20 emgh = instantaneous_phase(emgs); %Cálculo de la fase instantánea (con este cálculo se obtiene
    ↪ también la amplitud instantánea).

21 emg_amplitude = emgh.amplitude; %Generamos una matriz para la amplitud instantánea.
22 emg_amplitude = slidingavg(emg_amplitude,2*emg.fs); %Suavizado de la amplitud instantánea.

23 minVal = min(emg_amplitude); %Valor mínimo de la amplitud instantánea.
24 maxVal = max(emg_amplitude); %Valor máximo de la amplitud instantánea.
25 emg_amplitude = (emg_amplitude - minVal)/( maxVal - minVal ); %Normalización de los valores de la
    ↪ amplitud instantánea.

26 j = mintime; % Contador del bucle

27 %Este bucle calculará el valor medio de la amplitud en cada ventana de 5 segundos. Además generará un
    ↪ nuevo vector llamado "times" que contendrá, en cada una de sus filas, el valor de la ventana temporal
    ↪ a la que pertenece el valor promedio de amplitud instantánea.

28 for i = 1:tramos

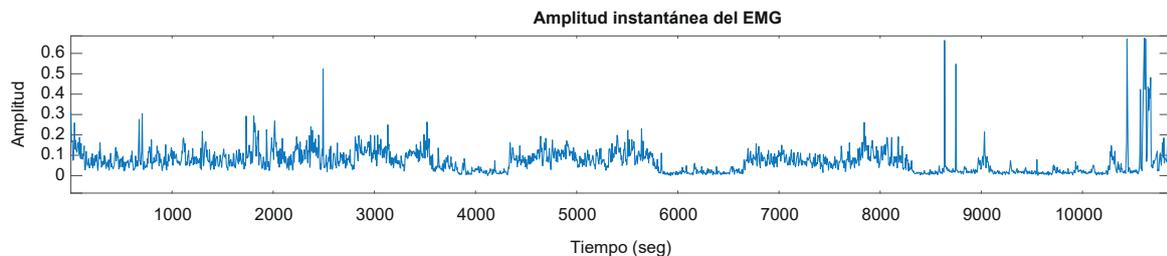
29     times(1,i) = window*i; %Vector que contiene el tiempo.

30     mean_emg_amplitude(i,1) = mean(abs(emg_amplitude(((i-1)*window*emg.fs+1):i*window*emg.fs)));
    ↪ %Vector que contiene la amplitud instantánea.

31     j = j+window; %Actualizamos el contador.

32 end

```



Asignación de los estados a través de los puntos de corte obtenidos de las gaussianas formadas a partir de los valores de la amplitud instantánea

```

33 % Código utilizado para obtener tres gaussianas y las intersecciones entre ellas.

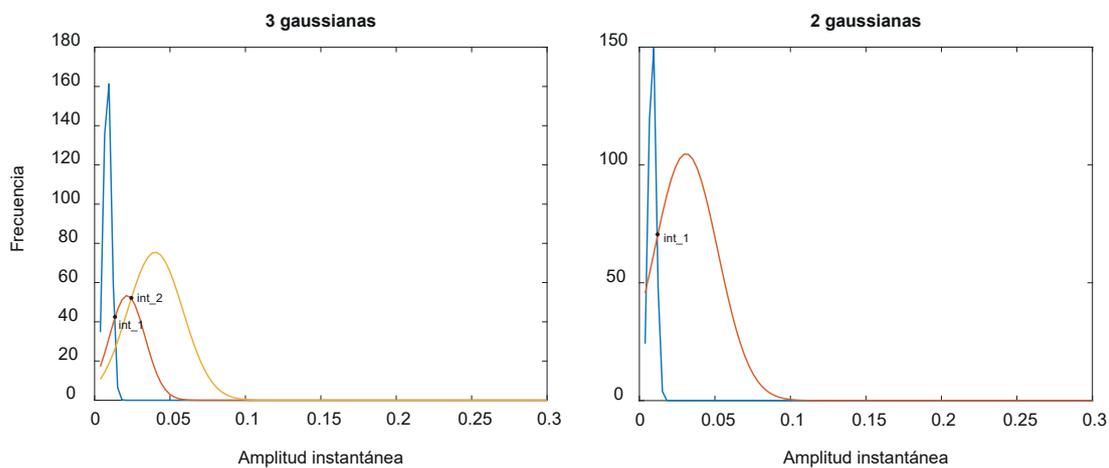
34 [n,x] = hist(mean_emg_amplitude,200); %Histograma de la amplitud instantánea.
35 [f,g,stat] = fit(x',n', 'gauss3'); %Ajuste de los datos a las gaussianas.
36 g1 = @(x) f.a1*exp(-(x-f.b1)/f.c1).^2); %Gaussiana 1.
37 g2 = @(x) f.a2*exp(-(x-f.b2)/f.c2).^2); %Gaussiana 2.
38 g3 = @(x) f.a3*exp(-(x-f.b3)/f.c3).^2); %Gaussiana 3.
39 dif_1 = @(x) g1(x)-g2(x);
40 dif_2 = @(x) g2(x)-g3(x);
41 int_1 = fzero(dif_1,0.05); %Valor del punto de corte entre las gaussianas 1 y 2.
42 int_2 = fzero(dif_2,0.05); %Valor del punto de corte entre las gaussianas 2 y 3.
43 plot(x,g1(x),x,g2(x),x,g3(x)); %Representación.

```

```

44 xlim([0,0.3]);
45 % Código utilizado para obtener dos gaussianas y su intersección
46 [n,x] = hist(mean_emg_amplitude,200); %Histograma de la amplitud instantánea.
47 [f,g,stat] = fit(x',n','gauss2'); %Ajuste de los datos a las gaussianas.
48 g1 = @(x) f.a1*exp(-((x-f.b1)/f.c1).^2); %Gaussiana 1.
49 g2 = @(x) f.a2*exp(-((x-f.b2)/f.c2).^2); %Gaussiana 2.
50 dif_1 = @(x) g1(x)-g2(x);
51 int_1 = fzero(dif_1,0.05); %Valor del punto de corte entre las gaussianas 1 y 2.
52 plot(x,g1(x),x,g2(x)); %Representación.
53 xlim([0,0.3]);
54 % En caso de que los puntos de corte generados no correspondan con los obtenidos en la imagen, estos
  ↪ pueden ser introducidos de manera manual.
55 int_1 = Punto de corte 1;
56 int_2 = Punto de corte 2;

```



- Si se obtienen 3 gaussianas se podrán asignar los estados de vigilia activa [4], vigilia tranquila [3] y sueño [1].

```

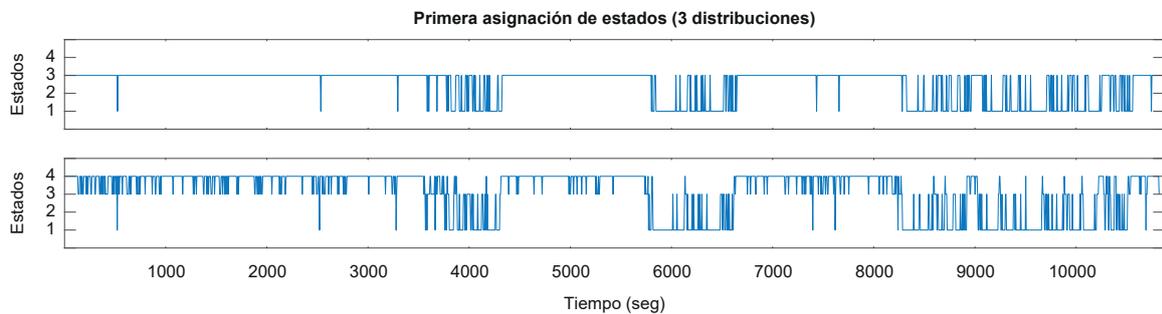
57 % Asignación de los estados de vigilia tranquila [3] y sueño [1] en una matriz llamada state. Cada fila de la
  ↪ matriz corresponderá al estado predominante que tenga el animal durante 5 segundos.
58 for i = 1:tramos
59     if mean_emg_amplitude(i,1) >= int_1;
60         state(i,1) = 3;
61     else
62         if mean_emg_amplitude(i,1) <= int_1;
63             state(i,1) = 1;
64         end
65     end
66 end
67 % Asignación de los estados de vigilia activa \textbf{[4]}.
68 for i = 1:tramos
69     if state(i,1) == 3;
70         if mean_emg_amplitude (i,1) >= int_2;
71             state(i,1) = 4;
72         end

```

```

73 end
74 end

```

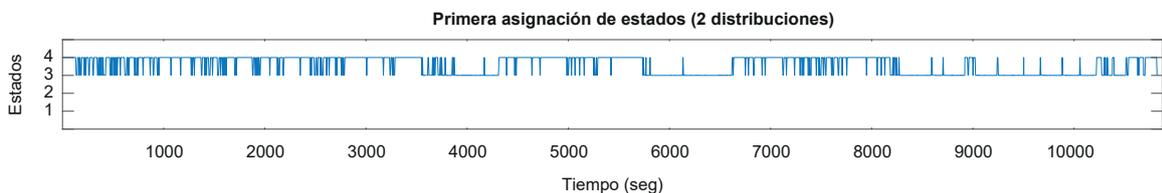


- Si solo se obtienen 2 gaussianas, únicamente se podrán asignar los estados de vigilia activa [4] y vigilia tranquila [3].

```

75 % Asignación de los estados de vigilia activa [4] y vigilia tranquila [3].
76 for i = 1:tramos
77     if mean_emg_amplitude(i,1) >= int_1;
78         state(i,1) = 4;
79     else
80         if mean_emg_amplitude(i,1) <= int_1;
81             state(i,1) = 3;
82         end
83     end
84 end

```



A partir de la matriz “state” generaremos una nueva matriz, a la que llamaremos “state_matlab”, y esta será en la que continuaremos trabajando. De este modo, en caso de fallo podríamos volver a la matriz original y empezar de nuevo.

```

85 state_matlab = state;

```

Cálculo de la potencia de la banda gamma (30-120 Hz) a través de la Transformada Rápida de Fourier (FFT) reetiquetar estados

```

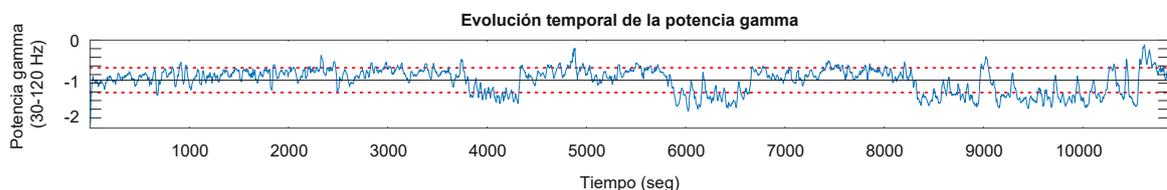
86 totalband = [0.1 200]; %Definimos la banda total de frecuencia.
87 b_gamma = [30 120]; %Definimos las frecuencias de interés dentro de la banda total. En este caso, las
    ↪ frecuencias que se encuentran entre 30 y 120 Hz.
88 Ch = hpc; %Establecemos el canal que se utilizará para los cálculos (en este caso utilizaremos el
    ↪ Hipocampo).
89 Ch.units = 'Volt';

```

```

90 j = 0; %Contador del bucle
91 %Este bucle calculará la potencia de la banda Gamma en ventanas de 5 segundos.
92 for i = 1:tramos
93     Chseg = segment_LFP(Ch,[j j+(window)]); %Segmentamos el registro en ventanas de 5 segundos.
94     Chseg.data = zscore(Chseg.data); %Transformación a puntuación Z (Media 0, Desviación típica ± 1).
95     % Parámetros de Fourier
96     params = fourier_params(Chseg);
97     params.band = totalband; %Representa espectro de potencias de la banda total.
98     params.band_vector = b_gamma; %Define banda de interés dentro de la banda total.
99     params.nwin = 8; %Define número de ventanas que utilizará el método Welch para generar un único
    ↪ espectro de potencia.
100     params.method = 'pwelch'; %Asignación del método Welch.
101     params.nfft = 1024; %Define resolución de frecuencias.
102     ps = fourier_power_spectrum(Chseg,params); %Vector que contiene el espectro de potencia.
103     band_power_gamma_hpc(i,1) = ps.band_power'; %Valor de la potencia Gamma.
104     j = j+window; % Actualizamos el contador.
105 end;
106 power_gamma_log = log(band_power_gamma_hpc); %Aplicamos el logaritmo a los valores de potencia
    ↪ para que las diferencias entre estos se amplifiquen.
107 mean_gamma = mean(power_gamma_log); %Calculamos la media de los valores de potencia.
108 sd_gamma = std(power_gamma_log); %Calculamos la desviación típica de los valores de potencia.

```



- En el caso de que se obtuvieran 3 gaussianas, como ya están definidos los 3 estados, la potencia de la banda gamma se utilizará para reasignar las etiquetas. En el caso de que un estado haya sido etiquetado como vigilia tranquila [3] y la potencia gamma se encuentre por debajo de la media total, este será etiquetado como sueño [1]. También se llevará a cabo el proceso contrario, si el estado ha sido etiquetado como sueño [1] y la potencia gamma tiene valores superiores a la media, este pasará a estar etiquetado como vigilia tranquila [3].

```

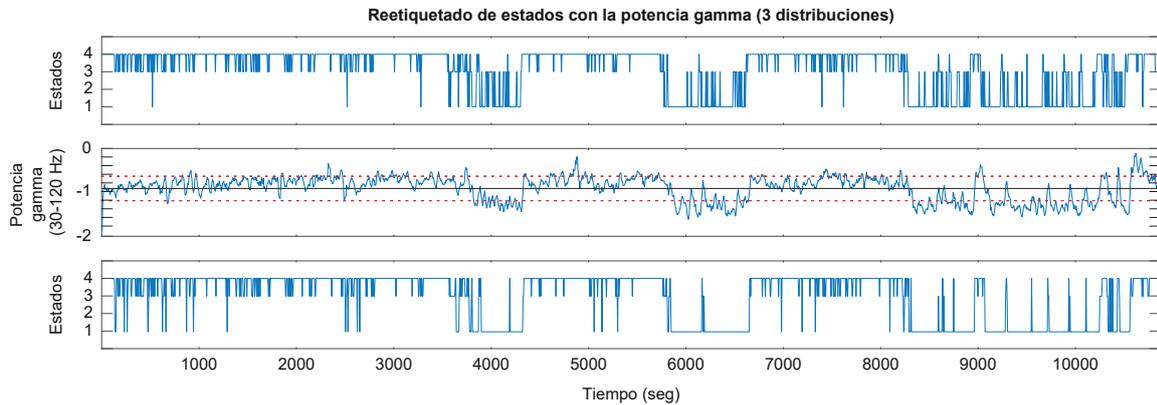
109 %Conversión de los estados de sueño en estados de vigilia tranquila.
110 for i = 1:tramos
111     if state_matlab(i,1) == 1;
112         if power_gamma_log(i,1) >= mean_gamma;
113             state_matlab(i,1) = 3;
114         end
115     end
116 end
117 %Conversión de los estados de vigilia tranquila en estados de sueño.

```

```

118 for i = 1:tramos
119     if state_matlab (i,1) == 3;
120         if power_gamma_log (i,1) <= mean_gamma;
121             state_matlab (i,1) = 1;
122         end
123     end
124 end

```

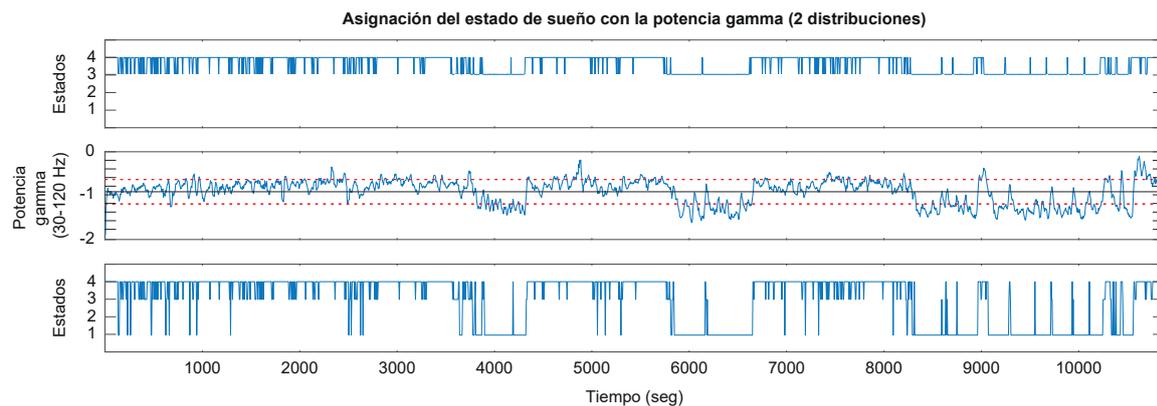


- Si solo se obtuvieron 2 gaussianas, es necesario definir el sueño [1]. Por lo tanto, todos los estados de vigilia tranquila [3] que tengan una potencia gamma menor a la media serán reetiquetados como sueño [1].

```

125 for i = 1:tramos
126     if state_matlab (i,1) == 3;
127         if power_gamma_log (i,1) <= mean_gamma;
128             state_matlab (i,1) = 1;
129         end
130     end
131 end

```



Transformación de estados incongruentes

```

132 %Transformación de las etiquetas de vigilia tranquila [3] en sueño [1] si estas se encuentran entre dos
133 ↪ etiquetas de sueño.

```

```

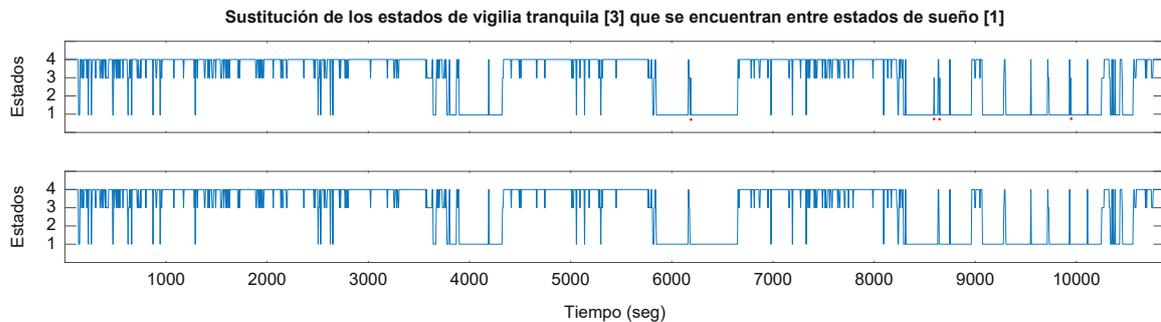
133 for i=1:tramos-1

```

```

134     if state_matlab(i,1) == 3
135         if state_matlab(i-1) == 1 & state_matlab(i+1) == 1
136             state_matlab(i,1) = 1;
137         end
138     end
139 end

```



```

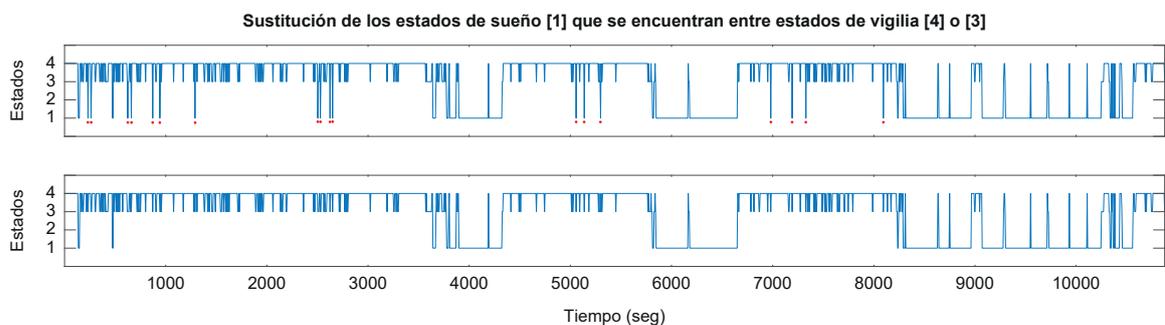
140 %Transformación de las etiquetas de sueño [1] en vigilia tranquila [3] si estas se encuentran entre dos
    ↪ etiquetas de vigilia (pueden ser vigilia tranquila o activa).

```

```

141 for i = 1:tramos-1
142     if state_matlab(i,1) == 1
143         if state_matlab(i+1) == 3 || state_matlab(i+1) == 4
144             if state_matlab(i-1) == 4 || state_matlab(i-1) == 3
145                 state_matlab(i,1) = 3;
146             end
147         end
148     end
149 end

```



```

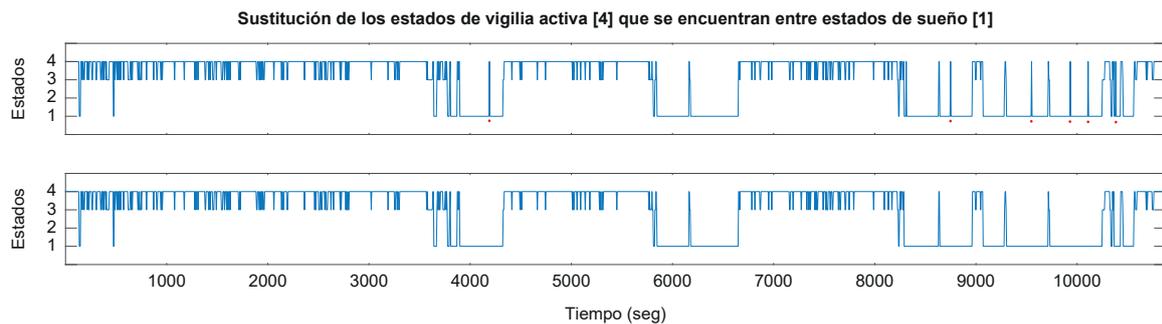
150 %Transformación de las etiquetas de vigilia activa [4] en sueño [1] si estas se encuentran entre dos
    ↪ etiquetas sueño.

```

```

151 for i=2:tramos-1
152     if state_matlab(i,1) == 4;
153         if state_matlab(i+1) == 1 & state_matlab(i-1) == 1;
154             state_matlab(i,1) = 1;
155         end
156     end
157 end

```

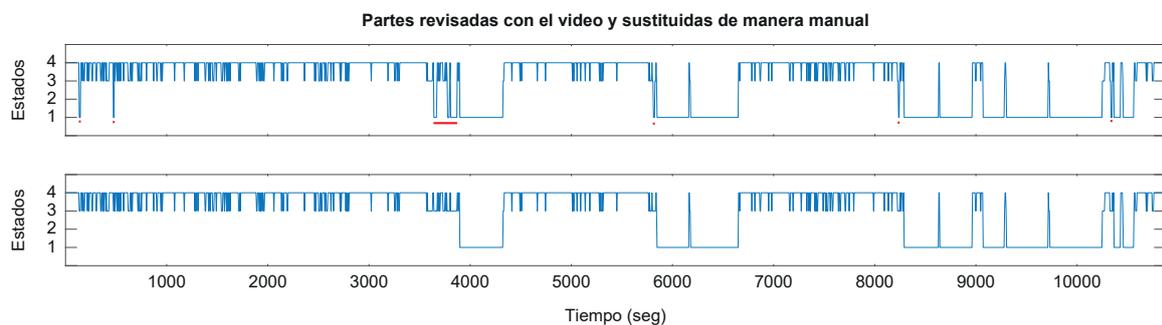


En algunas ocasiones puede ocurrir, que los estados de vigilia tranquila [3], durante el sueño [1], tengan una duración mayor a 5 segundos, por lo que los bucles anteriores no podrán sustituirlos. En estos casos, hay que comprobar en el vídeo si el animal esta despierto o dormido. Con este bucle se seleccionan los intervalos de tiempo y se sustituyen por sueño [1]. El mismo caso se puede dar a la inversa, que haya tramos de sueño [1] entre vigilia [3] o [4] que no hayan podido ser eliminados en los bucles anteriores.

```

158 for i = tiempo de inicio del intervalo de interés:tiempo final del intervalo de interés;
159     if state_matlab(i,1) == 3;
160         state_matlab(i,1) = 1;
161     end
162 end

```



Definición y asignación del sueño REM [2] y del SWS [1]

Esta asignación se realizará a partir de dos bandas: la banda delta (0.5-5 Hz) y la banda theta (5-10 Hz) y de la predominancia de estas dentro de cada ventana de 5 segundos. La predominancia de estas bandas se calculará a través de la función *detect_band*. Esta función identificará las regiones de las dos bandas de frecuencias anteriores cuya potencia supere un umbral (75 % de la potencia en el caso de la banda theta y un 25 % en la onda delta) respecto de la potencia total.

```

163 hpcs = segment_LFP(hpc, [mintime maxtime]); %Generamos una nueva variable con la señal de
    ↪ Hipocampo.
164 band = [0 30] %Definimos la dimensión de la banda total de análisis. En este caso, como el sueño será
    ↪ etiquetado a partir del ratio entre las potencias delta (0.5-5 Hz)/theta (5-10 Hz) es suficiente con
    ↪ definir el la resolución entre 0 y 30 Hz.
165 resolution = 0.1 %Fijamos la resolución del espectrograma Wavelet.
166 t0 = 0; %Fijamos el tiempo inicial como 0

```

```

167 ratio_theta = zeros(1,tramos); %Creamos una matriz llena de 0, donde irá la ratio de la potencia theta,
    ↪ con la longitud del hipnograma para disminuir el tiempo de computación.

168 j = 1; % Contador del bucle

169 %Este bucle calculará el valor de la ratio theta en cada ventana de 5 segundos.

170 for i=1:tramos
171     if state_matlab(i,1) == 1;
172         hpcsw = segment_LFP(hpcs,[t0+5*(i-1) t0+5*(i-1)+window]); %Segmentamos el registro de
    ↪ Hipocampo en ventanas de 5 segundos donde se realizarán los espectrogramas.
173         params = wavelet_params(hpcsw,band,resolution); %Definimos algunas opciones con las que trabajará
    ↪ el espectrograma Wavelet.
174         wsignal = wavelet_spectrogram (hpcsw,params,band,'zscore'); %Espectrograma Wavelet.
175         [~,db{1,j}] = detect_band(wsignal,[5 10],0.75); %Detección de la banda theta.
176         ratio_theta(i) = db{1,j}.ratio;
177         j = j+1; % Actualizamos el contador.
178     end
179 end

180 ratio_sw = zeros(1,tramos); %Creamos una matriz llena de 0, donde irá la ratio de la potencia delta, con
    ↪ la longitud del hipnograma para disminuir el tiempo de computación.

181 for i=1:tramos
182     if state_matlab(i,1) == 1;
183         hpcsw = segment_LFP(hpcs,[t0+5*(i-1) t0+5*(i-1)+window]); %Segmentamos el registro de
    ↪ Hipocampo en ventanas de 5 segundos donde se realizarán los espectrogramas.
184         params = wavelet_params(hpcsw,band,resolution); %Definimos algunas opciones con las que trabajaré
    ↪ el espectrograma Wavelet.
185         wsignal = wavelet_spectrogram (hpcsw,params,band,'zscore'); %Espectrograma Wavelet.
186         [~,db{1,j}] = detect_band(wsignal,[0.5 5],0.25); %Detección de la banda delta.
187         ratio_sw(i) = db{1,j}.ratio;
188         j = j+1; % Actualizamos el contador.
189     end
190 end

191 ratio_theta = ratio_theta'; %Transponemos la matriz.
192 ratio_sw = ratio_sw'; %Transponemos la matriz.
193 ratio_delta_theta = ratio_sw./ratio_theta; %Calculamos la ratio delta/theta.

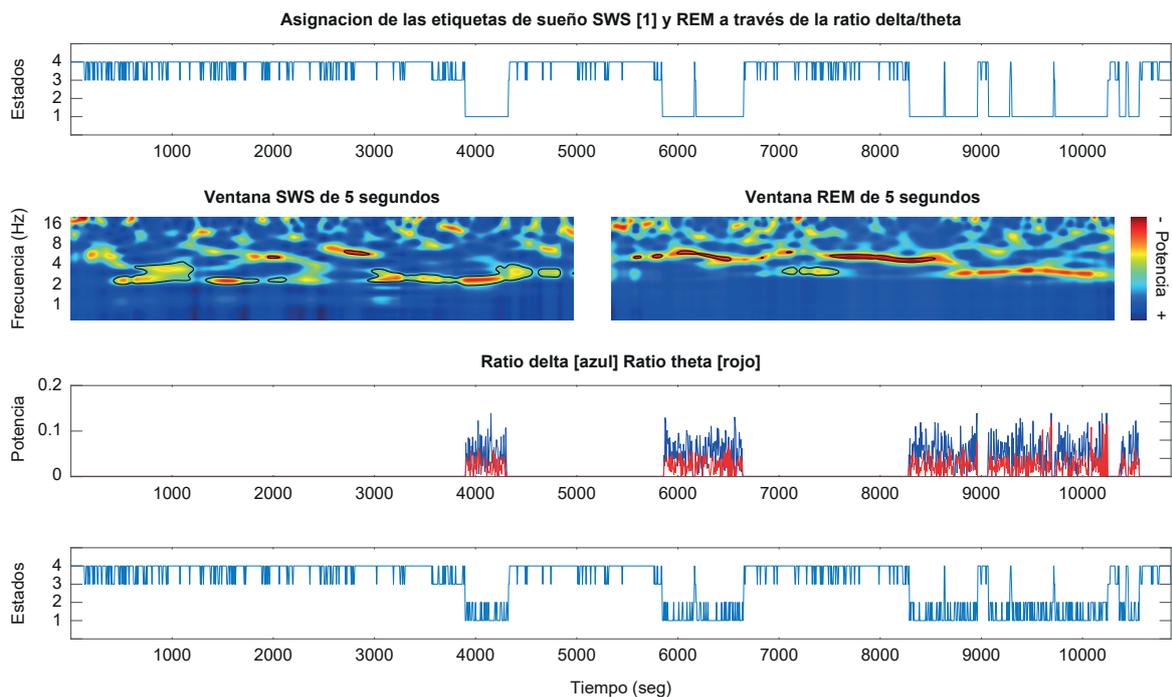
```

La asignación final de etiquetas de realizará a través de la ratio delta/theta. Por lo tanto, si en una ventana de 5 segundos predomina la oscilación delta en detrimento de la oscilación theta, será catalogada como SWS [1] debido a que la ratio entre ambas será mayor que 1. Por el contrario, si en la ventana de 5 segundos, predomina la oscilación theta, se catalogará como sueño REM [2] debido a que la ratio entre las dos oscilaciones será menor que 1.

```

194 for i=1:tramos
195     if state_matlab(i,1) == 1;
196         if ratio_delta_theta (i,1) >= 1;
197             state_matlab(i,1) = 1;
198         else ratio_delta_theta (i,1) < 1;
199             state_matlab(i,1) = 2;
200         end
201     end
202 end

```



Revisión del ratio delta/theta. En ocasiones, si no existen regiones theta (las cuales se etiquetaran como NaN o valor vacío), al dividir entre la ratio delta, el resultado de esta división dará como resultado NaN y se etiquetaría erróneamente como sueño REM. Con este bucle lo que se pretende conseguir es que si detecta un NaN en la fila(i) de la matriz *ratio_delta_theta*, compruebe si la misma fila(i) de *state_matlab* ha sido etiquetado como sueño REM [2]. Si esto ha ocurrido deberá comprobar si el valor de la ratio delta (en la fila i) es mayor que 0. Si esto se cumple, *state_matlab* (i) será reetiquetada como SWS [1].

```

203 for i = 1:tramos
204     if isnan(ratio_delta_theta (i,1));
205         if state(i,1) == 2
206             if isnan(ratio_theta(i,1)) && ratio_sw(i,1) >= 0;
207                 state_matlab (i,1) = 1;
208             else
209                 state_matlab (i,1) = 2;
210             end
211         end
212     end
213 end

```

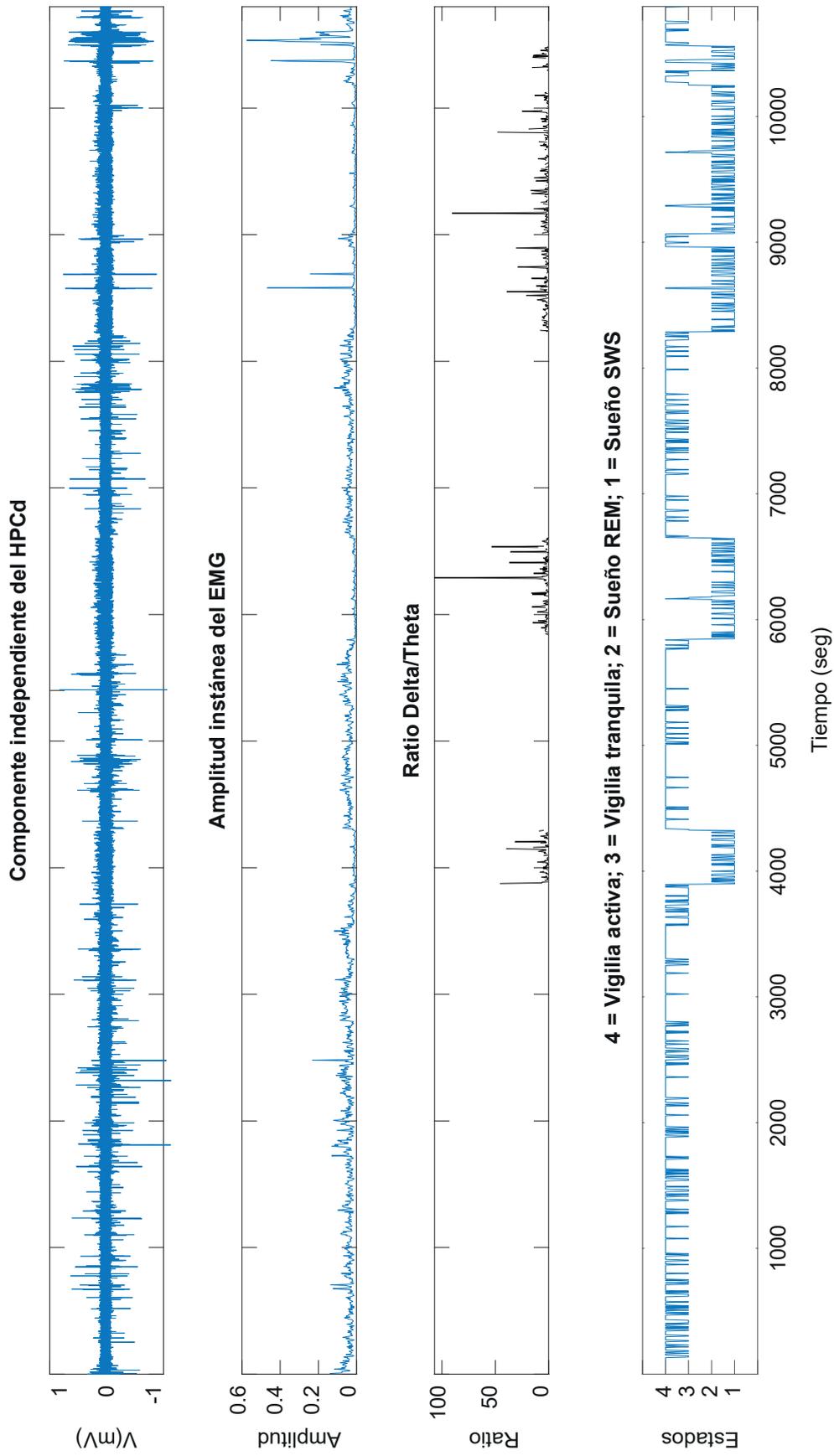
Cambiamos el nombre de la variable *state_matlab* y la guardamos

```

214 state = state_matlab;
215 save(state)

```

Representación final



Código utilizado para el análisis del test *OMaze* (RStudio)

Librerías

```

1 library(sp)
2 library(imputeTS)
3 library(ggplot2)
4 library(ggmap)
5 library(data.table)
6 library(cowplot)
7 library(corrplot)

```

Cargamos las funciones generadas por Sturman et al. (2020) y el CSV obtenido por *DeepLabCut*

```

8 setwd("C:/Users/Esteban Merino/Desktop/DLCAnalyzer-master") #Selección de la ruta de la carpeta que
  ↪ contiene las funciones.
9 source("R/DLCAnalyzer_Functions_final.R") #Búsqueda de las funciones dentro de la carpeta.
10 omaze <- ReadDLCDDataFromCSV(file = "example/OMaze/6C.csv", fps = 30) #Generamos una variable
  ↪ nueva que contenga todos los datos del CSV. Especificaremos el número de frames por segundo que
  ↪ tiene el vídeo.

```

Conversión de píxeles a cm

```

11 omaze <- CalibrateTrackingData(omaze, method = "distance", in.metric = 7, points = c("b_ex", "b_in"))
  ↪ # Utilizando el método de "distance" entre dos puntos del OMaze que marcan la parte interna y
  ↪ externa del pasillo y con el comando "in.metric" se define la distancia real entre estos dos puntos, la
  ↪ cual es 7 cm, se obtendrá el valor de medida del píxel en cm. Se podría utilizar también el radio
  ↪ externo del OMaze (60 cm) o el interno (46 cm).
12 omaze$px.to.cm #Visualización de la equivalencia de un píxel en cm.

```

Interpolación de las coordenadas que tengan una probabilidad menor del 95 % de haber sido etiquetadas correctamente

```

13 omaze <- CleanTrackingData(omaze, likelihoodcutoff = 0.95)

```

Lista de puntos etiquetados para el *OMaze*

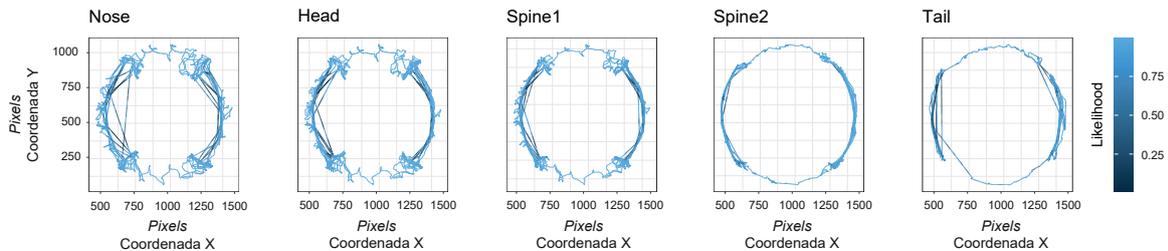
```

14 omaze[["point.info"]][["PointName"]]
15 #Las letras A,B,C,D,E,F,G,H e I marcan los puntos del laberinto, del mismo modo, "_in" y "_ex"
  ↪ representan si los puntos pertenecen a la circunferencia externa o a la interna.
16 #Las letras que llevan "_ext" son las partes externas a las paredes del laberinto. Estas delimitarán las
  ↪ zonas en las cuales se contará el tiempo que mira el animal hacia el suelo.
17 #El punto "center" representa el punto central de la circunferencia interna.
18 #Los puntos "nose", "head", "lear", "rear", "spine1", "spine2" y "tail" son los puntos marcados en el
  ↪ animal.

```

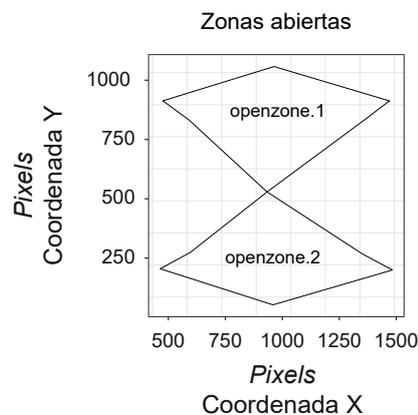
Gráficos de la distribución espacial de algunos de los puntos etiquetados en el animal junto a su probabilidad de etiquetado correcto

```
19 PlotPointData(omaze, points = c("nose", "head", "spine1", "spine2", "tail"))
```



Creación de las zonas abiertas del laberinto

```
20 #Para definir y crear las zonas abiertas del laberinto utilizaremos los puntos señalados en el inicio de los
    ↪ brazos cerrados (tanto los externos como los internos), el punto central externo de ambos brazos
    ↪ abiertos y el punto central de la circunferencia interna.
21 omaze <- AddZones(omaze,z = data.frame(openzone.1 = c("a_ex", "c_ex", "e_ex", "e_in",
22 "center", "a_in"), openzone.2 = c("j_ex", "h_ex", "f_ex", "f_in", "center", "j_in")))
23 #Es muy importante que el orden de los puntos que formarán el área de los brazos abiertos sean sucesivos.
    ↪ Es decir, para crear el "open.zone.1" se puede empezar por cualquiera de los puntos pero se tiene que
    ↪ seguir un orden (de izquierda a derecha o viceversa). En este caso, empezamos por el punto externo de
    ↪ uno de los brazos cerrados (a_ex), pasaríamos al punto central externo del brazo abierto (c_ex) y
    ↪ continuamos siguiendo el sentido de las agujas del reloj con e_ex (punto externo del brazo cerrado
    ↪ opuesto al inicial), e_in (punto interno del brazo cerrado opuesto al inicial), center (punto central de
    ↪ la circunferencia interna) y por último, a_in (punto interno del brazo cerrado inicial).
24 PlotZones(omaze, zones=c("openzone.1", "openzone.2")) #Representación ambas áreas
```



Bucle para saber si los puntos etiquetados en el animal se encuentran dentro de las zonas definidas como brazos abiertos


```

57 #En el caso de que ambas sean TRUE, se creará una nueva etiqueta “fuera”, lo que indicaría que el animal
   ↪ esta en los brazos abiertos. Si alguna de las condiciones lógicas fuera FALSE, se etiquetaría como
   ↪ “dentro”, lo que indicaría que el animal esta en los brazos cerrados.

58 for(i in 1:length(omaze$data$nose$x)){

59     time.openzone[i,1] = ifelse(((is.in.openzone.1[i,4] == TRUE) & (is.in.openzone.1[i,5] == TRUE)),
   ↪     "fuera", "dentro")

60     time.openzone[i,2] = ifelse(((is.in.openzone.2[i,4] == TRUE) & (is.in.openzone.2[i,5] == TRUE)),
   ↪     "fuera", "dentro")

61 }

62 #Por último, se sumaría el número de etiquetas que contienen la palabra “fuera”, de ambas matrices, y se
   ↪ dividiría entre 30 (número de frames por segundo) para conocer el tiempo que el animal ha estado en
   ↪ los brazos abiertos. Para conocer el tiempo que el animal ha estado en los brazos cerrados, se resta el
   ↪ tiempo total del test (300 segundos) al tiempo de los brazos abiertos.

63 tiempo.brazos.abiertos = round((sum(time.openzone[,1] == "fuera")/30) + (sum(time.openzone[,2] ==
   ↪ "fuera")/30))

64 tiempo.brazos.cerrados = round(300 - tiempo.brazos.abiertos)

```

Latencia o primera vez en los brazos abiertos

```

65 #Utilizaremos la funcion “which”, para conocer la posición de la primera etiqueta “fuera” de las matrices
   ↪ anteriores. Nos quedaremos con el tiempo mas bajo de los dos, y al igual que en el apartado anterior el
   ↪ resultado será dividido entre 30 para conocer exactamente en que segundo se produjo la salida.

66 latencia.zone.1 = which(time.openzone[,1] == "fuera")
67 latencia.zone.2 = which(time.openzone[,2] == "fuera")

68 latencia.zone.1[1]/30
69 latencia.zone.2[1]/30

```

Número de salidas a los brazos abiertos

```

70 #Para obtener el número de transiciones que el animal ha realizados desde los brazos abiertos a los brazos
   ↪ cerrados utilizaremos las matrices anteriores que tenian las etiquetas “dentro” y “fuera”. A través del
   ↪ siguiente bucle se comprobará si han cambiado las etiquetas entre un frame y el siguiente.

71 close.to.open = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 2) #Matriz donde se asignará la
   ↪ etiqueta “close.to.open” cada vez que las etiquetas “dentro” y “fuera” cambien entre un frame y el
   ↪ siguiente.

72 for(i in 1:length(omaze$data$nose$x)-1){

73     close.to.open[i,1] = ifelse(((time.openzone[i,1] == "dentro") & (time.openzone[i+1,1] == "fuera")),
   ↪     "close.to.open", "none")

74     close.to.open[i,2] = ifelse(((time.openzone[i,2] == "dentro") & (time.openzone[i+1,2] == "fuera")),
   ↪     "close.to.open", "none")

```

```

75 }
76 #Para saber cuántas veces ha realizado las transiciones, solamente es necesario sumar todas las etiquetas
  ↪ "close.to.open" que haya en la matriz.
77 sum(close.to.open == "close.to.open", na.rm = TRUE)

```

Número de conductas SAPs

```

78 #Para medir la conducta de SAPs, se fijaron dos condiciones: En primer lugar, la nariz, la cabeza y el cuello
  ↪ del animal deben encontrarse dentro de las zonas abiertas, sin embargo el animal debe estar "dentro"
  ↪ del brazo cerrado. Si se cumplen estas condiciones se generará la etiqueta "SAPs". Si ambos puntos
  ↪ están fuera o dentro de los brazos abiertos o cerrados del laberinto, será etiquetado como "No SAPs".
79 SAPs = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 2) #Matriz vacia donde se asignarán las
  ↪ etiquetas de la conducta SAPs.
80 for(i in 1:length(omaze$data$nose$x)){
81   SAPs[i,1] = ifelse(((is.in.openzone.1[i,1] == TRUE & is.in.openzone.1[i,2] == TRUE &
  ↪ is.in.openzone.1[i,3] == TRUE)), if(time.openzone[i,1] == "dentro"){"SAPs"} else {"No SAPs"},
  ↪ "No SAPs")
82   SAPs[i,2] = ifelse(((is.in.openzone.2[i,1] == TRUE & is.in.openzone.2[i,2] == TRUE &
83   is.in.openzone.2[i,3] == TRUE)), if(time.openzone[i,2] == "dentro"){"SAPs"} else {"No SAPs"}, "No
  ↪ SAPs")
84 }
85 #Para conocer el tiempo que el animal realiza la conducta de SAPs, solamente es necesario realizar el
  ↪ sumatorio de las etiquetas "SAPs" en ambos brazos. Para conocer los segundos exactos se divide esto
  ↪ entre 30 (número de frames por segundo).
86 tiempo.SAPs = round((sum(SAPs[,1] == "SAPs")/30) + (sum(SAPs[,2] == "SAPs")/30))
87 #También es posible conocer el número de veces o la frecuencia con la que el animal realiza esta conducta.
  ↪ En este caso, el bucle comprobará si las etiquetas de la matriz anterior cambian de "No SAPs" a
  ↪ "SAPs" entre un frame y otro. Si la condición se cumple, se generará la etiqueta "SAPs" en la
  ↪ siguiente matriz.
88 frequency.SAPs = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 2)
89 for(i in 1:length(omaze$data$nose$x)-1){
90   frequency.SAPs[i,1] = ifelse(((SAPs[i,1] == "No SAPs") & (SAPs[i+1,1] == "SAPs")), "SAPs", "none")
91   frequency.SAPs[i,2] = ifelse(((SAPs[i,2] == "No SAPs") & (SAPs[i+1,2] == "SAPs")), "SAPs", "none")
92 }
93 #Para conocer el número de veces que el animal ha realizado la conducta, solamente es necesario realizar el
  ↪ sumatorio de las etiquetas "SAPs" en ambos brazos.
94 SAPs_frequency = (sum(frequency.SAPs[,1] == "SAPs", na.rm = TRUE)) + (sum(frequency.SAPs[,2]
  ↪ == "SAPs", na.rm = TRUE))

```

Creación de las zonas que representan el precipicio

```

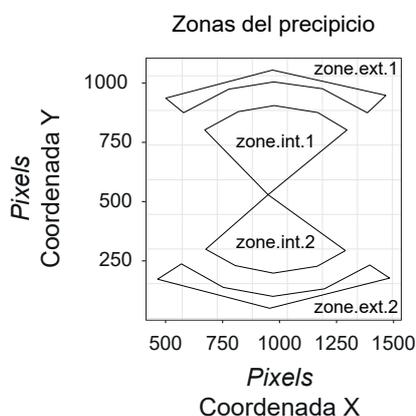
95 #Al igual que para las zonas abiertas es necesario definir las zonas de interés para poder medir la conducta
    ↪ de observación del precipicio. Se definirán con las mismas funciones que se utilizaron en las líneas de
    ↪ código 21 y 22. En este caso se utilizarán otros puntos y se definirán 4 zonas.

96 omaze <- AddZones(omaze,z = data.frame(zone.ext.1 = c("a_ext","c_ext","e_ext","e_ex","d_ext",
    ↪ "c_ex","b_ex","a_ex")))
97 omaze <- AddZones(omaze,z = data.frame(zone.int.1 = c("a_in","b_in","c_in","d_in","e_in",
    ↪ "center")))
98 omaze <- AddZones(omaze,z = data.frame(zone.ext.2 = c("f_ext","h_ext","i_ext","j_ex","i_ex",
    ↪ "h_ex","g_ex","f_ex")))
99 omaze <- AddZones(omaze,z = data.frame(zone.int.2 = c("f_in","g_in","h_in","i_in","j_in", "center")))

100 #De nuevo, para crear las zonas hay que seguir un orden (Ver línea de código 23).

101 PlotZones(omaze, zones=c("zone.ext.1","zone.int.1","zone.ext.2","zone.int.2")) #Representación de ambas
    ↪ áreas.

```



Bucle para saber si el punto etiquetado en la cabeza del animal se encuentra dentro de las zonas definidas como precipicio

```

102 #Para obtener el tiempo total durante el cual el animal esta realizando la conducta en las zonas de interés,
    ↪ se utilizará punto etiquetado de la cabeza. De nuevo, es necesario crear matrices vacías, en este caso 4
    ↪ (tantas como zonas creadas en el apartado anterior).

103 is.in.zone.ext.1 = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 1)
104 is.in.zone.int.1 = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 1)
105 is.in.zone.ext.2 = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 1)
106 is.in.zone.int.2 = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 1)

107 #Este bucle recorrerá todas las filas del CSV(cada una de ellas corresponde a un frame) y comprobará si
    ↪ las coordenadas de la cabeza del animal están dentro o fuera de las zonas de interés.

108 for(i in 1:length(omaze$data$nose$x)){
109     #Coordenadas dentro de los precipicios exteriores.

110     is.in.zone.ext.1[i,1] = point.in.polygon(omaze$data$head$x[[i]],omaze$data$head$y[[i]],
    ↪ omaze[["zones"]][["zone.ext.1"]$x,omaze[["zones"]][["zone.ext.1"]$y] == TRUE

111     is.in.zone.ext.2[i,1] = point.in.polygon(omaze$data$head$x[[i]],omaze$data$head$y[[i]],

```

```

112 omaze[["zones"]][["zone.ext.2"]]$x,omaze[["zones"]][["zone.ext.2"]]$y) == TRUE
113 #Coordenadas dentro de los precipicios interiores.
114 is.in.zone.int.1[i,1] = point.in.polygon(omaze$data$head$x[[i]],omaze$data$head$y[[i]],
115 omaze[["zones"]][["zone.int.1"]]$x,omaze[["zones"]][["zone.int.1"]]$y) == TRUE
116 is.in.zone.int.2[i,1] = point.in.polygon(omaze$data$head$x[[i]],omaze$data$head$y[[i]],
↪ omaze[["zones"]][["zone.int.2"]]$x,omaze[["zones"]][["zone.int.2"]]$y) == TRUE
117 }

```

Tiempo de exploración en el precipicio

```

118 #Este bucle recorrerá todas las filas de las matrices generadas en el bucle anterior y comprobará si las
↪ condiciones lógicas de la columna que contiene los datos de la cabeza son TRUE o FALSE. En el caso
↪ de que sea TRUE, se creará una nueva etiqueta "precipicio", lo que indicaría que el animal esta
↪ mirando hacia el suelo de la sala. Si, por el contrario, la condición lógica fuera FALSE, se etiquetaría
↪ como "no precipicio", lo que indicaría que el animal no esta mirando al suelo de la sala.
119 time.precipicio = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 4)
120 for(i in 1:length(omaze$data$nose$x)){
121     time.precipicio[i,1] = ifelse(((is.in.zone.ext.1[i,1] == TRUE)), "precipicio", "no precipicio")
122     time.precipicio[i,2] = ifelse(((is.in.zone.int.1[i,1] == TRUE)), "precipicio", "no precipicio")
123     time.precipicio[i,3] = ifelse(((is.in.zone.ext.2[i,1] == TRUE)), "precipicio", "no precipicio")
124     time.precipicio[i,4] = ifelse(((is.in.zone.ext.2[i,1] == TRUE)), "precipicio", "no precipicio")
125 }
126 #El tiempo total de la conducta será igual a la suma de todas las etiquetas "precipicio", las cuales, indican
↪ que el animal tenía la cabeza fuera de los brazos abiertos y ese resultado será dividido entre 30
↪ (número de frames en un segundo).
127 t.precipicio = (sum(time.precipicio[,1] == "precipicio") + sum(time.precipicio[,2] == "precipicio") +
↪ sum(time.precipicio[,3] == "precipicio") + sum(time.precipicio[,4] == "precipicio"))/30
128 #También es posible conocer el número de veces o la frecuencia con la que el animal realiza esta conducta.
↪ En este caso, el bucle comprobará si las etiquetas de la matriz anterior cambian de "no precipicio" a
↪ "precipicio" entre un frame y otro. Si la condición se cumple, se generará la etiqueta "precipicio" en la
↪ siguiente matriz.
129 frequency.precipicio = matrix(nrow = length(omaze$data$nose$x), ncol = 4)
130 for(i in 1:length(omaze$data$nose$x)-1){
131     frequency.precipicio[i,1] = ifelse(((time.precipicio[i,1] == "no precipicio") &
132     (time.precipicio[i+1,1] == "precipicio")), "precipicio", "none")
133     frequency.precipicio[i,2] = ifelse(((time.precipicio[i,2] == "no precipicio") &
134     (time.precipicio[i+1,2] == "precipicio")), "precipicio", "none")
135     frequency.precipicio[i,3] = ifelse(((time.precipicio[i,3] == "no precipicio") &
136     (time.precipicio[i+1,3] == "precipicio")), "precipicio", "none")

```

```

137     frequency.precipicio[i,4] = ifelse(((time.precipicio[i,4] == "no precipicio") &
138     (time.precipicio[i+1,4] == "precipicio")), "precipicio", "none")

139 }

140 #Para conocer el número de veces que el animal ha realizado la conducta, solamente es necesario realizar el
    ↪ sumatorio de las etiquetas "precipicio" en las 4 zonas.

141 precipicio_frequency = (sum(frequency.precipicio[,1] == "precipicio", na.rm = TRUE)) +
    ↪ (sum(frequency.precipicio[,2] == "precipicio", na.rm = TRUE)) + (sum(frequency.precipicio[,3] ==
    ↪ "precipicio", na.rm = TRUE)) + (sum(frequency.precipicio[,4] == "precipicio", na.rm = TRUE))

```

Código utilizado para el análisis del NORT (RStudio)

Librerías

```

1 library(sp)
2 library(imputeTS)
3 library(ggplot2)
4 library(ggmap)
5 library(data.table)
6 library(cowplot)
7 library(corrplot)
8 library(xlsx)

```

Cargamos las funciones generadas por Sturman et al. (2020) y el CSV obtenido por *DeepLabCut*

```

9 setwd("C:/Users/Esteban Merino/Desktop/DLCAnalyzer-master") #Selección de la ruta de la carpeta que
  ↳ contiene las funciones.
10 source('R/DLCAnalyzer_Functions_final.R') #Búsqueda de las funciones dentro de la carpeta.
11 NORT <- ReadDLCDDataFromCSV(file = "example/NORT/TRO.csv", fps = 30) #Lectura del CSV
  ↳ #Generamos una variable nueva que contenga todos los datos del CSV. Especificaremos el número de
  ↳ frames por segundo que tiene el vídeo.

```

Conversión de píxeles a cm

```

12 NORT <- CalibrateTrackingData(NORT, method = "area", in.metric = 50*50, points = c("tl", "tr", "br",
  ↳ "bl")) #Utilizando el método de "area" entre puntos de la caja y con el comando "in.metric" se define
  ↳ el área real de la caja, la cual es 50*50 cm, se obtendrá el valor de medida del píxel en cm.
13 NORT$px.to.cm #Visualización de la equivalencia de un píxel en cm.

```

Interpolación de las coordenadas que se tengan una probabilidad menor del 95 % de haber sido etiquetadas correctamente

```

14 NORT <- CleanTrackingData(NORT, likelihoodcutoff = 0.95)

```

Lista de puntos etiquetados en el test

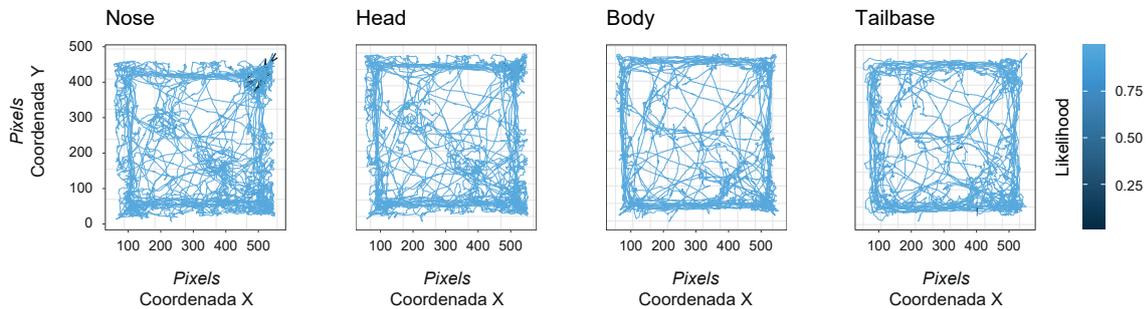
```

15 NORT[["point.info"]][["PointName"]]
16 #Los puntos "tl", "tr", "br" y "bl" representan los puntos marcados en cada una de las esquinas de la caja.
17 #Los puntos "l_center" y "r_center" son los puntos centrales de los objetos izquierdo y derecho.
  ↳ "l_radius" y "r_radius" marcarán los puntos del radio de los objetos izquierdo y derecho.
18 #Los puntos "nose", "head", "neck", "body" y "tailbase" son los puntos marcados en el animal.

```

Gráfico de la distribución espacial de algunos de los puntos etiquetados en el animal junto a su probabilidad de etiquetado correcto

```
19 PlotPointData(NORT, points = c("nose", "head", "body", "tailbase"))
```



Cálculo del radio de los objetos

```
20 #De esta manera se determinaría el área de exploración del objeto. Si el punto deseado con el que se
    ↪ medirá la conducta de exploración (en nuestro caso la nariz) se encuentra dentro del área, se contará
    ↪ como exploración. El problema es que restringir el área de exploración unicamente al objeto
    ↪ provocaría que se perdiesen gran parte de las aproximaciones a este. Por esta razón, el radio obtenido
    ↪ tras el cálculo de la distancia entre los puntos será multiplicado por 1.5.

21 #Radio del objeto izquierdo.

22 radius.left.object = sqrt((((NORT[["median.data"]][["x"]][[6]] - (NORT[["median.data"]][["x"]][[7]])^2) +
    ↪ (((NORT[["median.data"]][["y"]][[6]] - (NORT[["median.data"]][["y"]][[7]])^2))

23 radius.left.object #Valor del radio derecho.

24 radius.left.object = radius.left.object * 1.5

25 #Radio del objeto derecho.

26 radius.right.object = sqrt((((NORT[["median.data"]][["x"]][[8]] - (NORT[["median.data"]][["x"]][[9]])^2) +
    ↪ (((NORT[["median.data"]][["y"]][[8]] - (NORT[["median.data"]][["y"]][[9]])^2))

27 radius.right.object #Valor del radio derecho.

28 radius.right.object = radius.right.object * 1.5
```

Bucle que determinará la distancia entre la nariz del animal y los centros de los objetos

```
29 #Se definirán dos vectores vacíos, uno para el objeto de la derecha y otro para el de la izquierda, que se
    ↪ irán llenando con la distancia existente en cada frame entre la nariz y el centro del objeto. También se
    ↪ generará una matriz en la que cada fila, se llenará de las etiquetas "Exploring" o "No Exploring", si la
    ↪ distancia entre los puntos de la nariz y el centro es menor o mayor al radio anteriormente definido.

30 distance.object.left = NULL
31 distance.object.right = NULL

32 is.exploring = matrix(nrow = length(NORT$data$nose$x), ncol = 2)

33 for(i in 1:length(NORT$data$nose$x)){
34     #Distancia al objeto de la izquierda.
```

```

35 distance.object.left[i] = sqrt((((NORT[["data"]][["nose"]][i,2]] -
36 (NORT[["data"]][["l_center"]][i,2]))^2) + (((NORT[["data"]][["nose"]][i,3]] -
37 (NORT[["data"]][["l_center"]][i,3]))^2))
38 #Distancia al objeto de la derecha.
39 distance.object.right [i] = sqrt((((NORT[["data"]][["nose"]][i,2]] -
40 (NORT[["data"]][["r_center"]][i,2]))^2) + (((NORT[["data"]][["nose"]][i,3]] -
41 (NORT[["data"]][["r_center"]][i,3]))^2))
42 is.exploring[i,1] = ifelse((distance.object.left[i] < radius.left.object),
43 "Exploring", "No Exploring")
44 is.exploring[i,2] = ifelse((distance.object.right[i] < radius.right.object),
45 "Exploring", "No Exploring")
46 }

```

Exploración de los objetos

```

47 #Para conocer el tiempo total que han explorado los objetos, solamente es necesario sumar todas las
  ↪ etiquetas "Exploring" de ambas columnas de la matriz y dividir entre 30 (número de frames en un
  ↪ segundo).
48 explo.left = sum(is.exploring[,1] == "Exploring")/30
49 explo.right = sum(is.exploring[,2] == "Exploring")/30

```

Exploración temporal de la exploración los objetos

```

50 #También se pueden obtener los valores de exploración de ambos objeto en cada minuto para conocer la
  ↪ evolución temporal de esta. Solamente es necesario realizar un bucle que vaya sumando las etiquetas
  ↪ "Exploring" de ambos objetos cada 1800 frames (1 minuto) hasta llegar al último minuto.
51 explo.evo = NULL #Creamos un vector vacío que se llenará con los valores de la exploración.
52 for(i in 1:10){
53     explo.evo[i] = (sum(is.exploring[(1+(i-1)*1800):(i*1800), 1] == "Exploring") +
54     sum(is.exploring[(1+(i-1)*1800):(i*1800), 2] == "Exploring"))/30
55 }
56 write.xlsx(explo.evo, "Evolución temporal de la exploración.xlsx", row.names = TRUE) #Se guardará en
  ↪ un archivo excel para poder trabajar mejor a la hora de pasar los datos.

```

Evolución temporal de la locomoción

```

57 #Otro de los parámetros que podemos medir es la evolución temporal de la locomoción gracias a las
  ↪ funciones "CutTrackingData" y "CalculateMovement". La primera de ellas permite seleccionar los
  ↪ frames de interés y generar una nueva variable. La segunda permite calcular el movimiento de uno los
  ↪ puntos de interés en cada frame.
58 #Acortamos la matriz original a los frames correspondientes a cada minuto.

```

```

59 Min.1 <- CutTrackingData(NORT,start = 1, end = 16200)
60 Min.2 <- CutTrackingData(NORT,start = 1800, end = 14400)
61 Min.3 <- CutTrackingData(NORT,start = 3600, end = 12600)
62 Min.4 <- CutTrackingData(NORT,start = 5400, end = 10800)
63 Min.5 <- CutTrackingData(NORT,start = 7200, end = 9000)
64 Min.6 <- CutTrackingData(NORT,start = 9000, end = 7200)
65 Min.7 <- CutTrackingData(NORT,start = 10800, end = 5400)
66 Min.8 <- CutTrackingData(NORT,start = 12600, end = 3600)
67 Min.9 <- CutTrackingData(NORT,start = 14400, end = 1800)
68 Min.10 <- CutTrackingData(NORT,start = 16200, end = 1)

69 #Calculamos el movimiento de los puntos en cada frame.

70 Min.1 <- CalculateMovement(Min.1,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
71 Min.2 <- CalculateMovement(Min.2,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
72 Min.3 <- CalculateMovement(Min.3,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
73 Min.4 <- CalculateMovement(Min.4,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
74 Min.5 <- CalculateMovement(Min.5,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
75 Min.6 <- CalculateMovement(Min.6,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
76 Min.7 <- CalculateMovement(Min.7,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
77 Min.8 <- CalculateMovement(Min.8,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
78 Min.9 <- CalculateMovement(Min.9,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)
79 Min.10 <- CalculateMovement(Min.10,movement_cutoff = 5, integration_period = 5)

```

Cálculo de la locomoción

```

80 #Se utilizarán los datos del punto situado en el cuerpo del animal para calcular la distancia recorrida en
  ↪ cada frame. Se generará una nueva matriz que contendrá los datos de la distancia recorrida en cada
  ↪ minuto.

81 distance.moving = matrix(nrow = 1, ncol = 10)

82 distance.moving[1,1] = sum(Min.1[["data"]][["body"]][Min.1[["data"]][["body"]]]
83 $is.moving,"speed", na.rm = T)
84 distance.moving[1,2] = sum(Min.2[["data"]][["body"]][Min.2[["data"]][["body"]]]
85 $is.moving,"speed", na.rm = T)
86 distance.moving[1,3] = sum(Min.3[["data"]][["body"]][Min.3[["data"]][["body"]]]
87 $is.moving,"speed", na.rm = T)
88 distance.moving[1,4] = sum(Min.4[["data"]][["body"]][Min.4[["data"]][["body"]]]
89 $is.moving,"speed", na.rm = T)
90 distance.moving[1,5] = sum(Min.5[["data"]][["body"]][Min.5[["data"]][["body"]]]
91 $is.moving,"speed", na.rm = T)
92 distance.moving[1,6] = sum(Min.6[["data"]][["body"]][Min.6[["data"]][["body"]]]
93 $is.moving,"speed", na.rm = T)
94 distance.moving[1,7] = sum(Min.7[["data"]][["body"]][Min.7[["data"]][["body"]]]
95 $is.moving,"speed", na.rm = T)
96 distance.moving[1,8] = sum(Min.8[["data"]][["body"]][Min.8[["data"]][["body"]]]
97 $is.moving,"speed", na.rm = T)
98 distance.moving[1,9] = sum(Min.9[["data"]][["body"]][Min.9[["data"]][["body"]]]
99 $is.moving,"speed", na.rm = T)
100 distance.moving[1,10] = sum(Min.10[["data"]][["body"]][Min.10[["data"]][["body"]]]
101 $is.moving,"speed", na.rm = T)

102 write.xlsx(distance.moving, "Locomocion.xlsx", row.names = TRUE) #Se guardará en un archivo excel
  ↪ para poder trabajar mejor a la hora de pasar los datos.

```

Código utilizado para el análisis del FST (RStudio)

Librerías

```

1 library(sp)
2 library(imputeTS)
3 library(ggplot2)
4 library(ggmap)
5 library(data.table)
6 library(cowplot)
7 library(corrplot)

```

Cargamos las funciones generadas por Sturman et al. (2020) y el CSV obtenido por *DeepLabCut*

```

8 setwd("C:/Users/Esteban Merino/Desktop/DLCAnalyzer-master") #Selección de la ruta de la carpeta que
  ↳ contiene las funciones.
9 source('R/DLCAnalyzer_Functions_final.R') #Búsqueda de las funciones dentro de la carpeta.
10 FST <- ReadDLCDDataFromCSV(file = "example/FST/DLC_Data/FST_4.csv", fps = 30) #Generamos
  ↳ una variable nueva que contenga todos los datos del CSV. Especificaremos el número de frames por
  ↳ segundo que tiene el vídeo.

```

Conversión de píxeles a cm

```

11 FST <- CalibrateTrackingData(FST, "distance", in.metric = 20, points = c("r1", "r7")) #Utilizando el
  ↳ método de "distance" entre dos puntos opuestos que forman el radio del recipiente con agua, y con el
  ↳ comando "in.metric" se define la distancia real entre estos dos puntos, la cual es 20 cm, se obtendrá el
  ↳ valor de medida del píxel en cm. Se podría utilizar también cualquiera de los otros punto del radio del
  ↳ recipiente siempre ambos sean opuestos.
12 FST$px.to.cm #Visualización de la equivalencia de un píxel en cm.

```

Recortamos los datos del vídeo

```

13 #Siguiendo las instrucciones de Yankelevitch-Yahav et al., (2015), la conducta del animal debería ser
  ↳ analizada a partir del segundo minuto de test, por lo tanto solo serían de interés los 4 últimos minutos
  ↳ del vídeo. A través de la siguiente línea de código se eliminarán los 3600 primeros frames del vídeo
  ↳ (esto correspondería a los 2 primeros minutos).
14 FST <- CutTrackingData(FST, start = 3600)

```

Interpolación de las coordenadas que tengan una probabilidad menor del 95 % de haber sido etiquetadas correctamente

```

15 FST <- CleanTrackingData(FST, likelihoodcutoff = 0.95)

```

Lista de puntos etiquetados en el test

```

16 FST[["point.info"]][["PointName"]]
17 #Los puntos R1 hasta R12 representan los puntos marcados a lo largo de la circunferencia que delimita la
   ↪ superficie del agua y la pared del recipiente.
18 #Los puntos "nose", "head", "body" y "tailbase" son los puntos marcados en el animal.

```

Definición y agrupamiento de los puntos en categorías

```

19 #En este caso, y a diferencia del código de los otros test, es necesario definir que puntos pertenecen al
   ↪ animal y cuales pertenecen al recipiente con agua. Esto sirve para que cuando se calcule la variable
   ↪ inmovilidad solamente la calcule de los puntos del animal y no de todos los demás. Para esto,
   ↪ necesitamos un CSV a parte que contenga una columna (llamada "PointName") con el nombre de las
   ↪ etiquetas de DLC, y otra columna (llamada "PointType") que refleje a que categoría pertenece, si al
   ↪ area con agua o al ratón.
20 pointinfo <- read.table("DLCAnalyzer-master/example/FST/FST_pointinfo.csv", sep = ";", header = T)
21 FST <- AddPointInfo(FST, pointinfo)
22 FST$point.info

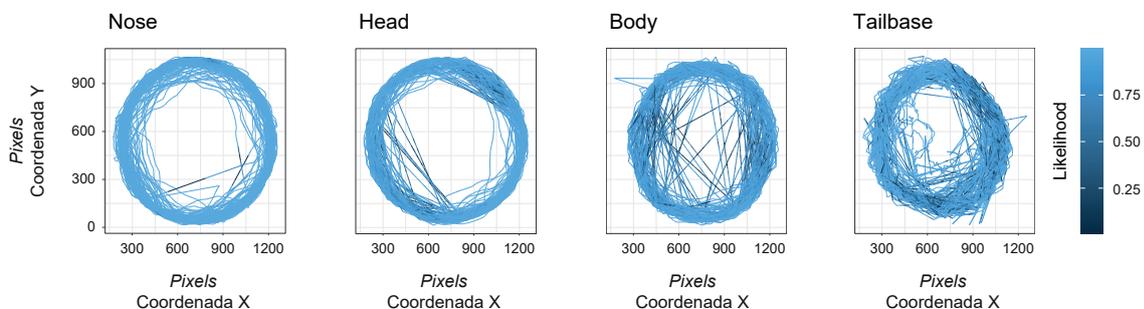
```

Gráfico de la distribución espacial de algunos de los puntos etiquetados en el animal junto a su probabilidad de etiquetado correcto

```

23 PlotPointData(omaze, points = c("nose", "head", "spine2", "tail"))

```

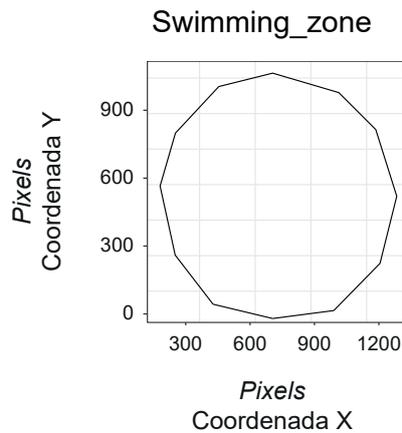


Creación del área con agua

```

24 #Para definir y crear la zona que separa la superficie del agua de la pared del recipiente, uniremos los
   ↪ puntos del radio, desde R1 hasta R12, siguiendo el movimiento de las agujas del reloj.
25 FST <- AddZones(FST, z = data.frame(radius = c("r1", "r2", "r3", "r4", "r5", "r6", "r7", "r8", "r9",
26 "r10", "r11", "r12")))
27 PlotZones(FST, zones=c("radius")) #Representación del área.

```



Conducta de escalada. Bucle para saber si el punto de la nariz se encuentran dentro o fuera de la zona que delimita la superficie del agua y la pared del recipiente

```

28 #Para medir la conducta de escalada se utilizará el punto de la nariz y se contará como escalada cada vez
   ↳ que esta salga del área definida anteriormente. A través de la función “point.in.polygon”, y con el área
   ↳ creada en el apartado anterior, se puede generar un vector lógicos (TRUE o FALSE) para saber si este
   ↳ punto esta dentro o fuera del área de interés en cada uno de los frames. Definimos en primer lugar una
   ↳ matriz que se llenará con las condiciones lógicas.

29 is.in.area = matrix(nrow = length(FST$data$nose$x), ncol = 1) #Matriz para la zona con agua.

30 #Este bucle recorrerá todas las filas del CSV(cada una de ellas corresponde a un frame) y comprobará si
   ↳ las coordenadas del punto de la nariz del animal están dentro o fuera de la zona.

31 for(i in 1:length(FST$data$nose$x)){
32     is.in.area[i,1] = point.in.polygon(FST$data$nose$x[[i]],FST$data$nose$y[[i]],
33     FST[["zones"]][["radius"]]$x,FST[["zones"]][["radius"]]$y) == TRUE
34 }

```

Tiempo de escalada

```

35 #Para obtener el tiempo en el cual el animal está realizando la conducta de escalada, solamente es
   ↳ necesario sumar aquellas filas en las cuales la nariz de encuentre fuera del área definida, es decir,
   ↳ aquellas que contengan la condición logica FALSE. Para conocer el resultado en segundos es necesario
   ↳ dividir este sumatorio entre 30 (número de frames en un segundo).

36 climbing.time = round((sum(is.in.area[,1] == FALSE)/30))

```

Tiempo de inmovilidad

```

37 #El código de Sturman et al., (2020) ya contiene la función para medir esta variable. Para ello es
   ↳ necesario definir los puntos que se quieren analizar, en nuestro caso el cuerpo del ratón; y las variables
   ↳ “cutoff_floating” e “integration_period”, las cuales definirán la velocidad y el número de píxeles que
   ↳ determinaran si hay movimiento o no.

```

```
38 FST <- FSTAnalysis(FST,cutoff_floating = 0.02, integration_period = 4, Object = "Mouse", points =  
↪ "body")  
39 immobility.time = round(FST$Report$time.floating) #La función FSTAnalysis permite obtener el tiempo  
↪ de la conducta en segundos.
```

Tiempo de natación

```
40 #Para obtener el tiempo de natación, solamente es necesario restarle al tiempo total que dura el test tanto  
↪ el tiempo que el animal permanece inmóvil, como el tiempo de escalada.  
41 swimming.time = round((FST$Report$total.time - FST$Report$time.floating) - climbing.time)
```

Código utilizado para el análisis del TST (RStudio)

Librerías

```

1 library(sp)
2 library(imputeTS)
3 library(ggplot2)
4 library(ggmap)
5 library(data.table)
6 library(cowplot)
7 library(corrplot)

```

Cargamos las funciones generadas por Sturman et al. (2020) y el CSV obtenido por *DeepLabCut*

```

8 setwd("C:/Users/Esteban Merino/Desktop/DLCAnalyzer-master") #Selección de la ruta de la carpeta que
  ↪ contiene las funciones.
9 source('R/DLCAnalyzer_Functions_final.R') #Búsqueda de las funciones dentro de la carpeta.
10 TST <- ReadDLCDDataFromCSV(file = "example/TST/TST_32.csv", fps = 30) #Generamos una variable
  ↪ nueva que contenga todos los datos del CSV. Especificaremos el número de frames por segundo que
  ↪ tiene el vídeo.

```

Conversión de píxeles a cm

```

11 TST <- CalibrateTrackingData(TST, method = "distance", in.metric = 25, points = c("lbar",
12 "rbar")) #Utilizando el método de "distance" entre los dos puntos opuestos marcados en los extremos de la
  ↪ barra de la que cuelga el animal, y con el comando "in.metric" se define la distancia real entre estos
  ↪ dos puntos, la cual es 25 cm, se obtendrá el valor de medida del píxel en cm.
13 TST$px.to.cm #Visualización de la equivalencia de un píxel en cm.

```

Interpolación de las coordenadas que tengan una probabilidad menor del 95 % de haber sido etiquetadas correctamente

```

14 TST <- CleanTrackingData(TST, likelihoodcutoff = 0.95)

```

Lista de puntos etiquetados en el test

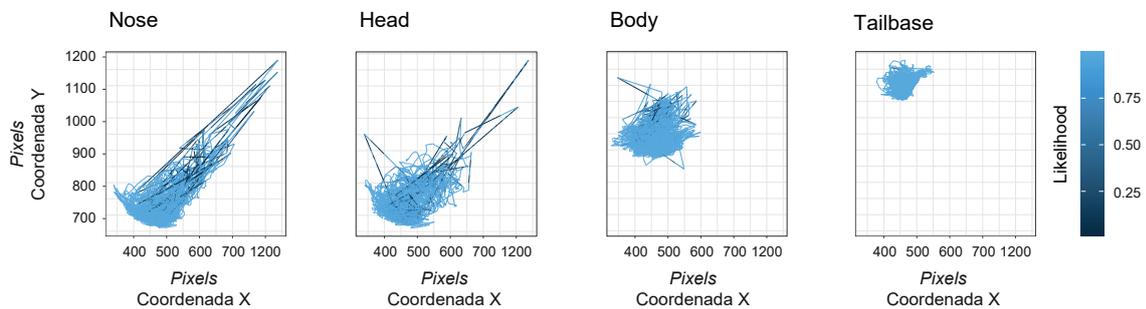
```

15 TST[["point.info"]][["PointName"]]
16 #Los puntos "lbar" y "rbar" representan los puntos marcados en los extremos de la barra y que sirven
  ↪ para transformar los píxeles a cm.
17 #Los puntos "nose", "head", "body" y "tailbase" son los puntos marcados en el animal.

```

Gráfico de la distribución espacial de algunos de los puntos etiquetados en el animal junto a su probabilidad de etiquetado correcto

```
18 PlotPointData(TST, points = c("nose", "head", "body", "tailbase"))
```



Cálculo del movimiento de los diferentes puntos del animal

```
19 #El código de Sturman et al., (2020) ya contiene la función para medir el movimiento de los puntos. Para
  ↪ ello es necesario definir las variables "cutoff_floating" e "integration_period", las cuales definirán la
  ↪ velocidad y el número de píxeles que determinarán si hay movimiento o no.
20 TST <- CalculateMovement(TST, movement_cutoff = 2, integration_period = 1)
```

Extraemos los vectores lógicos de la matriz que nos indicarán si los puntos están en movimiento o no y generamos una nueva matriz con estos datos

```
21 nose_mov = TST[["data"]][["nose"]][["is.moving"]]
22 head_mov = TST[["data"]][["head"]][["is.moving"]]
23 body_mov = TST[["data"]][["body"]][["is.moving"]]
24 tailbase_mov = TST[["data"]][["tailbase"]][["is.moving"]]
25 moving = cbind(nose_mov, head_mov, body_mov, tailbase_mov) #Matriz que incluye todas las
  ↪ condiciones lógicas de los puntos.
```

Bucle que determinará si el animal se está moviendo o permanece inmóvil

```
26 #En primer lugar, generamos un vector que albergará las etiquetas "immobile" y "mobile" en función de si
  ↪ se cumplen las condiciones del bucle. Para determinar la inmovilidad es necesario que no haya
  ↪ movimiento de los puntos de la nariz, cabeza y cuerpo. Si alguno de estos se mueve, se considerará
  ↪ como movimiento del animal.
27 movement = NULL #Vector vacío.
28 for(i in 1:length(nose_mov)){
29   movement[i] = ifelse(((nose_mov[i] == FALSE) & (head_mov[i] == FALSE) & (body_mov[i] ==
  ↪ FALSE)), "immobile", "mobile")
30 }
```

Cálculo de los tiempos de movilidad e inmovilidad

```
31 #Para obtener ambos tiempos solamente es necesario sumar todas las etiquetas de las diferentes categorías
  ↪ y dividir el resultado entre 30 (número de frames en un segundo).
```

```
32 sum(movement == "immobile")/30 #Tiempo de inmovilidad.
```

```
33 sum(movement == "mobile")/30 #Tiempo de movilidad.
```


Código utilizado para el análisis del test *Novelty* (RStudio)

Librerías

```

1 library(sp)
2 library(imputeTS)
3 library(ggplot2)
4 library(ggmap)
5 library(data.table)
6 library(cowplot)
7 library(corrplot)

```

Cargamos las funciones generadas por Sturman et al. (2020) y el CSV obtenido por *DeepLabCut*

```

8 setwd("C:/Users/Esteban Merino/Desktop/DLCAnalyzer-master") #Selección de la ruta de la carpeta que
  ↪ contiene las funciones.
9 source('R/DLCAnalyzer_Functions_final.R') #Búsqueda de las funciones dentro de la carpeta
10 novelty <- ReadDLCDDataFromCSV(file = "example/Novelty/novelty_32.csv", fps = 30) #Generamos
  ↪ una variable nueva que contenga todos los datos del CSV y especificaremos el número de frames por
  ↪ segundo que tiene el vídeo

```

Conversión de píxeles a cm

```

11 novelty <- CalibrateTrackingData(novelty, method = "distance", in.metric = 50, points = c("tl","tr"))
  ↪ #Utilizando el método de "distance" entre dos esquinas de la caja, y con el comando "in.metric" se
  ↪ define la distancia real entre estos dos puntos, la cual es 50 cm, se obtendrá el valor de medida del
  ↪ píxel en cm.
12 novelty$px.to.cm #Visualización de la equivalencia de un pixel en cm

```

Interpolación de las coordenadas que tengan una probabilidad menor del 95 % de haber sido etiquetadas correctamente

```

13 novelty <- CleanTrackingData(novelty, likelihoodcutoff = 0.95)

```

Lista de puntos etiquetados en el test

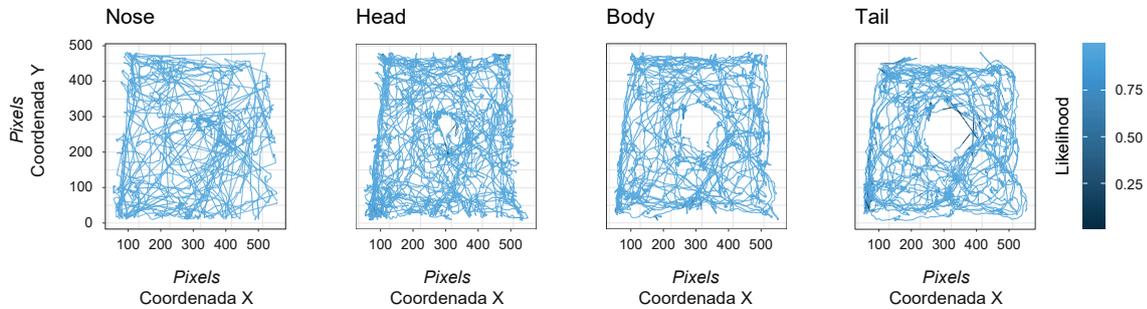
```

14 novelty[["point.info"]][["PointName"]]
15 #Los puntos "tl", "tr", "br" y "bl" representan los puntos marcados en cada una de las esquinas de la caja.
16 #Los puntos "ex_1" hasta "ex_8" representan los puntos marcados en la circunferencia de la placa Petri
  ↪ externa. Los puntos "in_1" hasta "in_8" son los puntos que delimitan la circunferencia de la placa
  ↪ Petri interna, donde se sitúa la comida.
17 #Los puntos "nose", "head", "body" y "tail" son los puntos marcados en el animal.

```

Gráfico de la distribución espacial de algunos de los puntos etiquetados en el animal junto a su probabilidad de etiquetado correcto

```
18 PlotPointData(novelty, points = c("nose", "head", "body", "tail"))
```



Cálculo del movimiento de los diferentes puntos del animal

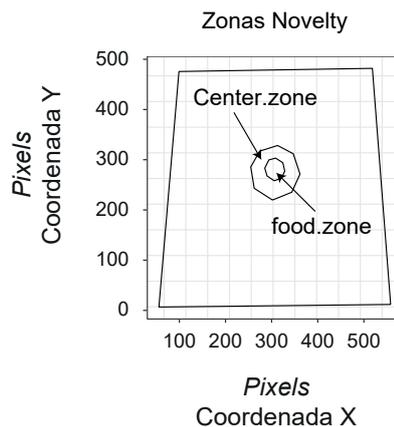
```
19 #Para este test se generarán 3 zonas: arena, será la zona más grande (representará toda la superficie de la
  ↪ caja) y estará construida por las cuatro esquinas de esta; center.zone, que representará toda el área de la
  ↪ placa Petri externa; y food.zone, que incluye el área placa Petri central (más pequeña), donde se sitúa
  ↪ el pellet (esta zona está en la parte central de la center.zone y sobre ella).
```

```
20 novelty <- AddZones(novelty,z = data.frame(arena = c("tr", "tl", "bl", "br")))
```

```
21 novelty <- AddZones(novelty,z = data.frame(food.zone = c("in_1", "in_2", "in_3", "in_4",
  22 "in_5", "in_6", "in_7", "in_8")))
```

```
23 novelty <- AddZones(novelty,z = data.frame(center.zone = c("ex_1", "ex_2", "ex_3", "ex_4",
  24 "ex_5", "ex_6", "ex_7", "ex_8")))
```

```
25 PlotZones(novelty) #Representación de todas las áreas
```



Bucle que indica si los puntos están en una zona o en otra

```
26 #Para la exploración de la food.zone se utilizará el punto marcado en la nariz, debido a que esta área es
  ↪ muy pequeña y que la nariz se encuentra a la misma altura que la boca del animal. Para las demás
  ↪ áreas utilizaremos la cabeza del animal. Se generarán 3 matrices que se irán llenando con las
  ↪ condiciones lógicas TRUE o FALSE según vaya recorriendo el bucle cada uno de los frames.
```

```

27 is.in.center.zone = matrix(nrow = length(novelty$data$nose$x), ncol = 1)
28 is.in.food.zone = matrix(nrow = length(novelty$data$nose$x), ncol = 1)
29 is.in.arena = matrix(nrow = length(novelty$data$nose$x), ncol = 1)

30 for(i in 1:length(novelty$data$nose$x)){
31     #Puntos dentro de la placa Petri externa o center.zone

32     is.in.center.zone[i] = point.in.polygon(novelty$data$head$x[[i]],
33     novelty$data$head$y[[i]],novelty[["zones"]][["center.zone"]]$x,
34     novelty[["zones"]][["center.zone"]]$y) == TRUE

35     #Puntos dentro de la placa Petri interna o food.zone

36     is.in.food.zone[i] = point.in.polygon(novelty$data$nose$x[[i]],
37     novelty$data$nose$y[[i]], novelty[["zones"]][["food.zone"]]$x,
38     novelty[["zones"]][["food.zone"]]$y) == TRUE

39     #Puntos dentro del área del arena

40     is.in.arena[i] = point.in.polygon(novelty$data$head$x[[i]],
41     novelty$data$head$y[[i]],novelty[["zones"]][["arena"]]$x,
42     novelty[["zones"]][["arena"]]$y) == TRUE

43 }

```

Tiempo en las zonas de estudio

```

44 #El tiempo que el animal está en las zonas será igual al sumatorio de todas las veces que las matrices
    ↪ contiene los valores TRUE dividido entre 30 (número de frames en un segundo).

45 time.center.zone = round((sum(is.in.center.zone == TRUE)/30)) #Tiempo en la placa Petri externa
46 time.food.zone = round((sum(is.in.food.zone == TRUE)/30)) #Tiempo en la placa Petri interna
47 time.arena = round((sum(is.in.arena == TRUE)/30)) #Tiempo total del animal dentro de la caja

```

Latencia a entrar en las zonas de interés

```

48 #La latencia representa el tiempo que tarda el animal en entrar por primera vez en las zonas centrales de
    ↪ la caja, es decir, las más ansiogénicas. Se utilizará la función "which" para saber cual es la primera
    ↪ posición del comando lógico TRUE.

49 latencia.center.zone = which(is.in.center.zone == "TRUE")
50 latencia.center.zone[1]/30 #Latencia a la placa Petri externa

51 latencia.food.zone = which(is.in.food.zone == "TRUE")
52 latencia.food.zone[1]/30 #Latencia a la placa Petri interna, donde está situada la comida

```

Transiciones entre zonas

```

53 #A través del siguiente bucle es posible obtener el número de entradas y salidas del animal entre varias
    ↪ zonas como son: las entradas a la placa Petri externa y las transiciones desde la placa Petri externa a
    ↪ la interna (la que contiene la comida).

```

```

54 #Para ello se tiene que cumplir la condicion por la cual la cabeza del animal debe estar en un frame en una
   ↪ zona y en los siguientes dos frames después en la otra. Se generarán 2 matrices que que se llenarán con
   ↪ las etiquetas definidas en el bucle.

55 arena.to.center_zone = matrix(nrow = length(novelty$data$nose$x), ncol = 1) #Transiciones hacia la
   ↪ placa Petri externa
56 center_zone.to.food_zone = matrix(nrow = length(novelty$data$nose$x), ncol = 1) #Transiciones desde
   ↪ la placa Petri externa hacia la placa Petri interna

57 for(i in 1:length(is.in.arena)){

58     center_arena.to.center_zone[i] = ifelse(((is.in.center.zone[i] == FALSE) &
59     (is.in.center.zone[i+1] == TRUE) & (is.in.center.zone[i+2] == TRUE)),
60     "entry.center_zone", "none")

61     center_zone.to.food_zone[i] = ifelse(((is.in.food.zone[i] == FALSE) &
62     (is.in.food.zone[i+1] == TRUE) & (is.in.food.zone[i+2] == TRUE)),
63     "entry.food_zone", "none")

64 }

65 #Para obtener el número de transiciones realizadas, solamente es necesario sumar las etiquetas generadas
   ↪ en cada matriz.

66 sum(center_arena.to.center_zone == "entry.center_zone", na.rm = TRUE) #Número de transiciones
   ↪ hacia la placa Petri externa
67 sum(center_zone.to.food_zone == "entry.food_zone", na.rm = TRUE) #Número de transiciones desde la
   ↪ placa Petri externa hacia la placa Petri interna

```

Porcentaje de tiempo en cada zona

```

68 #Para obtenerlo solamente es necesario dividir el tiempo que pasa el animal en cada una de las zonas
   ↪ dividido entre el tiempo total del test (600 segundos) y multiplicarlo por 100.

69 (time.center.zone/600)*100
70 (time.food.zone/600)*100

```

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla Supl. 1: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de HPCd (5 mg/kg)

Frecuencia	SW		Theta bajo					Theta alto					
	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	3-4 Hz	4-5 Hz	5-6 Hz	6-7 Hz	7-8 Hz	8-9 Hz	9-10 Hz	10-11 Hz	11-12 Hz	
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{5,20}$ = 1.63	$F_{5,20}$ = 1.33	$F_{5,20}$ = 2.95 *	$F_{5,20}$ = 1.30	$F_{5,20}$ = 0.73	$F_{5,20}$ = 1.24	$F_{5,20}$ = 1.22	$F_{5,20}$ = 1.78	$F_{5,20}$ = 0.20	-	-	-
	35-40 Hz	$F_{5,20}$ = 2.08	$F_{5,20}$ = 0.77	$F_{5,20}$ = 0.42	$F_{5,20}$ = 1.66	$F_{5,20}$ = 1.57	$F_{5,20}$ = 1.01	$F_{5,20}$ = 0.39	$F_{5,20}$ = 0.11	$F_{5,20}$ = 0.70	$F_{5,20}$ = 0.08	-	-
	40-45 Hz	$F_{5,20}$ = 1.88	$F_{5,20}$ = 0.49	$F_{5,20}$ = 0.45	$F_{5,20}$ = 0.42	$F_{5,20}$ = 1.91	$F_{5,20}$ = 1.06	$F_{5,20}$ = 1.14	$F_{5,20}$ = 0.31	$F_{5,20}$ = 1.16	$F_{5,20}$ = 1.93	$F_{5,20}$ = 0.58	-
	45-50 Hz	$F_{5,20}$ = 1.66	$F_{5,20}$ = 0.64	$F_{5,20}$ = 0.80	$F_{5,20}$ = 0.38	$F_{5,20}$ = 1.19	$F_{5,20}$ = 0.59	$F_{5,20}$ = 0.46	$F_{5,20}$ = 0.23	$F_{5,20}$ = 0.96	$F_{5,20}$ = 2.16	$F_{5,20}$ = 2.21	$F_{5,20}$ = 0.47
	50-55 Hz	$F_{5,20}$ = 0.97	$F_{5,20}$ = 0.48	$F_{5,20}$ = 1.04	$F_{5,20}$ = 0.72	$F_{5,20}$ = 0.46	$F_{5,20}$ = 0.57	$F_{5,20}$ = 1.00	$F_{5,20}$ = 0.46	$F_{5,20}$ = 0.93	$F_{5,20}$ = 5.50 **	$F_{5,20}$ = 2.41	$F_{5,20}$ = 1.84
	55-60 Hz	$F_{5,20}$ = 0.71	$F_{5,20}$ = 0.55	$F_{5,20}$ = 1.64	$F_{5,20}$ = 1.02	$F_{5,20}$ = 0.62	$F_{5,20}$ = 0.39	$F_{5,20}$ = 0.83	$F_{5,20}$ = 1.72	$F_{5,20}$ = 0.62	$F_{5,20}$ = 1.20	$F_{5,20}$ = 0.74	$F_{5,20}$ = 0.58
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{5,20}$ = 0.79	$F_{5,20}$ = 2.08	$F_{5,20}$ = 2.52 #	$F_{5,20}$ = 3.63 *	$F_{5,20}$ = 0.98	$F_{5,20}$ = 0.30	$F_{5,20}$ = 0.57	$F_{5,20}$ = 1.04	$F_{5,20}$ = 0.61	$F_{5,20}$ = 0.98	$F_{5,20}$ = 0.76	$F_{5,20}$ = 1.59
	65-70 Hz	$F_{5,20}$ = 1.42	$F_{5,20}$ = 3.79 *	$F_{5,20}$ = 6.07 **	$F_{5,20}$ = 3.44 *	$F_{5,20}$ = 0.93	$F_{5,20}$ = 0.88	$F_{5,20}$ = 0.39	$F_{5,20}$ = 0.51	$F_{5,20}$ = 1.08	$F_{5,20}$ = 0.84	$F_{5,20}$ = 1.27	$F_{5,20}$ = 2.09
	70-75 Hz	$F_{5,20}$ = 1.65	$F_{5,20}$ = 1.71	$F_{5,20}$ = 3.69 *	$F_{5,20}$ = 1.60	$F_{5,20}$ = 1.09	$F_{5,20}$ = 0.99	$F_{5,20}$ = 0.42	$F_{5,20}$ = 0.57	$F_{5,20}$ = 1.32	$F_{5,20}$ = 0.59	$F_{5,20}$ = 1.10	$F_{5,20}$ = 0.26
	75-80 Hz	$F_{5,20}$ = 0.99	$F_{5,20}$ = 0.67	$F_{5,20}$ = 1.19	$F_{5,20}$ = 0.27	$F_{5,20}$ = 1.48	$F_{5,20}$ = 1.04	$F_{5,20}$ = 0.72	$F_{5,20}$ = 0.05	$F_{5,20}$ = 1.09	$F_{5,20}$ = 0.92	$F_{5,20}$ = 0.49	$F_{5,20}$ = 1.36
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{5,20}$ = 0.77	$F_{5,20}$ = 0.64	$F_{5,20}$ = 0.17	$F_{5,20}$ = 0.33	$F_{5,20}$ = 0.44	$F_{5,20}$ = 1.43	$F_{5,20}$ = 0.57	$F_{5,20}$ = 0.33	$F_{5,20}$ = 0.44	$F_{5,20}$ = 1.11	$F_{5,20}$ = 0.62	$F_{5,20}$ = 1.16
	85-90 Hz	$F_{5,20}$ = 0.58	$F_{5,20}$ = 0.70	$F_{5,20}$ = 0.22	$F_{5,20}$ = 0.67	$F_{5,20}$ = 2.14	$F_{5,20}$ = 1.50	$F_{5,20}$ = 0.59	$F_{5,20}$ = 0.39	$F_{5,20}$ = 0.80	$F_{5,20}$ = 1.40	$F_{5,20}$ = 0.74	$F_{5,20}$ = 0.35
	90-95 Hz	$F_{5,20}$ = 0.61	$F_{5,20}$ = 1.06	$F_{5,20}$ = 1.19	$F_{5,20}$ = 0.63	$F_{5,20}$ = 1.04	$F_{5,20}$ = 1.47	$F_{5,20}$ = 1.20	$F_{5,20}$ = 0.51	$F_{5,20}$ = 2.20	$F_{5,20}$ = 1.65	$F_{5,20}$ = 1.02	$F_{5,20}$ = 0.78
	95-100 Hz	$F_{5,20}$ = 0.46	$F_{5,20}$ = 1.06	$F_{5,20}$ = 1.66	$F_{5,20}$ = 0.65	$F_{5,20}$ = 0.50	$F_{5,20}$ = 0.98	$F_{5,20}$ = 1.72	$F_{5,20}$ = 1.13	$F_{5,20}$ = 2.42	$F_{5,20}$ = 1.93	$F_{5,20}$ = 0.80	$F_{5,20}$ = 0.79
	100-105 Hz	$F_{5,20}$ = 0.48	$F_{5,20}$ = 0.97	$F_{5,20}$ = 1.98	$F_{5,20}$ = 2.07	$F_{5,20}$ = 0.46	$F_{5,20}$ = 0.69	$F_{5,20}$ = 1.91	$F_{5,20}$ = 1.74	$F_{5,20}$ = 8.89 ***	$F_{5,20}$ = 0.71	$F_{5,20}$ = 0.72	$F_{5,20}$ = 0.57
	105-110 Hz	$F_{5,20}$ = 0.54	$F_{5,20}$ = 0.77	$F_{5,20}$ = 1.91	$F_{5,20}$ = 0.87	$F_{5,20}$ = 0.35	$F_{5,20}$ = 0.63	$F_{5,20}$ = 1.54	$F_{5,20}$ = 1.71	$F_{5,20}$ = 2.47	$F_{5,20}$ = 0.48	$F_{5,20}$ = 0.34	$F_{5,20}$ = 0.83
	110-115 Hz	$F_{5,20}$ = 0.66	$F_{5,20}$ = 0.55	$F_{5,20}$ = 1.64	$F_{5,20}$ = 0.92	$F_{5,20}$ = 0.21	$F_{5,20}$ = 0.37	$F_{5,20}$ = 0.64	$F_{5,20}$ = 1.27	$F_{5,20}$ = 0.57	$F_{5,20}$ = 0.51	$F_{5,20}$ = 0.53	$F_{5,20}$ = 0.40
	115-120 Hz	$F_{5,20}$ = 1.39	$F_{5,20}$ = 1.08	$F_{5,20}$ = 1.67	$F_{5,20}$ = 0.57	$F_{5,20}$ = 0.25	$F_{5,20}$ = 0.41	$F_{5,20}$ = 0.95	$F_{5,20}$ = 1.24	$F_{5,20}$ = 0.69	$F_{5,20}$ = 0.27	$F_{5,20}$ = 0.54	$F_{5,20}$ = 0.35

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Frecuencia		SW											
		Theta bajo											
		Theta alto											
		0.1-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8	8-9	9-10	10-11	11-12
		Hz	Hz	Hz	Hz	Hz	Hz	Hz	Hz	Hz	Hz	Hz	Hz
HFO	120-125	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	2.68 #	1.71	1.57	0.42	0.46	0.50	0.92	0.31	0.48	0.31	0.72	0.37
	125-130	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	2.86 *	1.59	1.86	0.35	0.47	0.68	0.36	0.43	0.53	0.31	0.72	0.37
	130-135	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	2.49 #	1.64	1.26	0.26	0.36	0.44	0.44	0.39	0.60	0.61	0.36	0.88
	135-140	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	2.52 #	1.52	1.05	0.14	0.26	0.32	0.31	0.49	0.50	0.83	0.26	0.67
	140-145	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	1.87	1.53	1.33	0.10	0.21	0.30	0.34	0.22	0.46	0.49	0.20	1.15
	145-150	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	1.25	1.41	1.73	0.15	0.20	0.27	0.24	0.39	0.37	0.48	0.30	1.06
	150-155	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	1.09	0.85	0.71	0.12	0.26	0.38	0.26	0.82	1.45	0.61	0.50	0.87
	155-160	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	0.99	0.81	0.29	0.23	0.95	1.08	1.62	1.30	1.42	0.57	0.65	1.23
	160-165	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	0.95	0.80	0.27	0.21	0.84	1.01	1.89	1.29	0.98	0.84	0.58	0.98
	165-170	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$
	Hz	1.14	0.74	0.32	0.19	0.72	0.58	1.98	1.09	0.74	1.02	0.62	0.99
170-175	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	
Hz	1.28	0.61	0.43	1.18	0.64	2.94 *	2.41	2.82 *	0.64	0.30	0.76	0.66	
175-180	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	
Hz	1.47	0.64	0.67	1.55	3.02 *	2.68 #	3.59 *	2.81 *	0.71	0.21	0.75	0.30	
180-185	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	
Hz	1.57	0.65	0.68	1.80	4.96 **	2.56 #	0.95	1.41	0.16	0.81	0.09	1.20	
185-190	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	
Hz	1.36	0.59	0.54	2.31	6.02 **	3.16 *	3.05 *	2.13	0.19	0.55	0.25	0.97	
190-195	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	
Hz	1.21	0.59	0.46	3.34 *	7.40 ***	3.98 *	2.54 #	1.95	0.26	0.74	0.34	0.47	
195,200	$F_{5,20}$ =	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	$F_{5,20}$	
Hz	0.33	0.38	0.57	1.44	1.05	1.35	2.13	0.34	0.24	0.40	0.50	0.30	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Tabla Supl. 2: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de vmPFC (5 mg/kg)

Frecuencia		SW		Theta bajo				Theta alto						
		0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	3-4 Hz	4-5 Hz	5-6 Hz	6-7 Hz	7-8 Hz	8-9 Hz	9-10 Hz	10-11 Hz	11-12 Hz	
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{15,20}$ =	$F_{5,20}$ =	$F_{15,20}$ =	-									
		0.31	1.14	4.05 *	1.25	0.64	0.57	2.90 *	1.73	0.10	0.50	2.21		
	35-40 Hz	$F_{15,20}$ =	-											
		1.77	1.45	3.45 *	1.10	1.28	2.66	1.39	0.07	0.24	3.05 *	0.60		
	40-45 Hz	$F_{15,20}$ =	$F_{10,20}$ =	$F_{10,20}$ =	-									
		0.56	1.96	1.49	0.62	0.89	0.76	0.75	2.19	0.75	1.66	0.55		
45-50 Hz	$F_{15,20}$ =													
	0.65	0.96	0.53	1.24	1.02	0.16	0.25	1.17	0.22	1.12	0.50	0.42		
50-55 Hz	$F_{15,20}$ =	$F_{10,20}$ =	$F_{15,20}$ =	$F_{15,20}$ =										
	0.43	0.37	3.21 *	0.89	1.54	0.16	0.32	1.22	0.40	0.51	2.28	0.69		
55-60 Hz	$F_{15,20}$ =													
	0.38	0.30	0.90	0.90	1.12	0.37	0.76	0.74	0.49	1.49	2.06	1.43		
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{15,20}$ =												
		1.30	0.53	0.71	1.43	0.35	0.68	1.15	0.29	0.61	2.42	0.82	2.00	
	65-70 Hz	$F_{15,20}$ =												
		1.26	0.55	0.97	0.74	0.39	0.50	1.47	0.91	0.61	1.83	1.01	2.09	
70-75 Hz	$F_{15,20}$ =	$F_{10,20}$ =												
	1.24	0.50	1.34	0.71	0.79	0.82	1.09	1.02	0.63	1.95	0.75	2.37		
75-80 Hz	$F_{15,20}$ =													
	1.14	0.71	1.16	0.55	0.90	0.95	0.56	0.21	0.81	1.12	1.68	0.97		
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{15,20}$ =												
		1.46	0.66	1.06	0.62	0.79	0.97	0.42	0.29	0.79	0.90	0.98	0.77	
	85-90 Hz	$F_{15,20}$ =												
		0.92	0.61	1.30	0.73	0.61	0.59	0.32	0.25	0.38	0.74	1.21	0.29	
	90-95 Hz	$F_{15,20}$ =												
		0.26	0.96	1.80	1.03	0.84	0.60	0.41	0.28	0.54	1.63	1.21	1.27	
	95-100 Hz	$F_{15,20}$ =												
		0.29	1.17	1.52	1.33	1.21	0.54	0.61	0.49	0.75	0.85	1.12	1.65	
100-105 Hz	$F_{15,20}$ =													
	0.36	1.20	1.24	1.52	0.81	0.41	1.52	0.27	1.22	0.73	0.73	1.13		
105-110 Hz	$F_{15,20}$ =													
	0.65	1.27	1.40	1.24	0.80	0.67	2.00	0.37	0.95	0.89	1.23	0.78		
110-115 Hz	$F_{15,20}$ =													
	0.63	1.43	1.93	1.19	1.08	0.63	1.82	0.37	1.23	0.93	1.18	1.03		
115-120 Hz	$F_{15,20}$ =													
	0.53	0.91	1.85	1.07	0.76	0.60	1.56	0.34	1.14	0.49	1.03	0.93		
HFO	120-125 Hz	$F_{15,20}$ =												
		0.70	0.69	1.56	0.95	0.58	0.65	1.53	0.46	1.37	0.53	1.05	1.54	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Frecuencia	SW			Theta bajo				Theta alto				
	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	3-4 Hz	4-5 Hz	5-6 Hz	6-7 Hz	7-8 Hz	8-9 Hz	9-10 Hz	10-11 Hz	11-12 Hz
125-130 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.84	0.67	1.25	0.90	0.79	0.57	1.08	0.55	1.32	0.74	0.74	1.50
130-135 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.58	0.65	0.89	0.74	0.98	0.55	1.06	0.55	1.04	0.88	0.49	1.54
135-140 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.52	0.63	0.70	0.80	1.10	0.44	0.98	0.80	0.81	0.84	0.52	1.06
140-145 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.55	0.68	0.63	1.05	0.95	0.50	1.44	0.13	0.74	0.63	0.44	1.61
145-150 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.52	0.84	0.43	1.06	1.02	0.27	1.46	0.70	1.10	1.22	0.55	2.94 *
150-155 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.69	0.92	0.40	0.78	0.88	0.48	1.26	1.46	0.93	1.37	0.64	0.88
155-160 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.99	0.84	0.43	0.60	0.66	0.82	0.87	1.93	0.85	1.25	0.69	0.67
160-165 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.99	0.77	0.45	0.49	0.53	1.02	0.96	1.22	1.75	1.10	0.46	2.08
165-170 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.98	0.73	0.49	0.49	0.58	1.24	0.99	0.52	1.59	0.68	0.18	2.60
170-175 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.98	0.71	0.52	0.56	0.49	1.24	0.95	0.51	0.72	0.58	0.40	0.95
175-180 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.51	0.51	0.61	0.57	0.32	0.87	0.95	0.32	0.53	0.49	0.47	0.74
180-185 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.45	0.17	0.79	0.44	0.19	0.64	0.77	0.33	0.93	0.47	0.51	0.77
185-190 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.23	0.11	0.70	0.41	0.31	0.64	1.25	0.41	1.15	0.51	0.54	0.40
190-195 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.24	0.18	0.59	0.43	0.48	0.86	1.25	0.64	0.83	0.47	0.57	0.71
195,200 Hz	$F_{15,20}$ =											
	0.22	0.25	0.52	0.46	0.56	0.96	0.95	0.68	0.55	0.33	0.52	0.71

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Tabla Supl. 3: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de HPCd (30 mg/kg)

Frecuencia		SW			Theta bajo				Theta alto				
		0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	3-4 Hz	4-5 Hz	5-6 Hz	6-7 Hz	7-8 Hz	8-9 Hz	9-10 Hz	10-11 Hz	11-12 Hz
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{6,24}$ = 2.39 #	$F_{6,24}$ = 0.47	$F_{6,24}$ = 1.71	$F_{6,24}$ = 2.63 *	$F_{6,24}$ = 0.54	$F_{6,24}$ = 0.53	$F_{6,24}$ = 0.69	$F_{6,12}$ = 0.33	$F_{6,12}$ = 0.17	$F_{6,6}$ = 1.20	-	-
	35-40 Hz	$F_{6,24}$ = 2.92 *	$F_{6,24}$ = 0.71	$F_{6,24}$ = 0.45	$F_{6,24}$ = 0.48	$F_{6,24}$ = 0.15	$F_{6,24}$ = 0.65	$F_{6,24}$ = 2.62 *	$F_{6,18}$ = 1.58	$F_{6,18}$ = 0.24	-	-	-
	40-45 Hz	$F_{6,24}$ = 2.78 *	$F_{6,24}$ = 0.72	$F_{6,24}$ = 0.34	$F_{6,24}$ = 1.43	$F_{6,24}$ = 0.37	$F_{6,24}$ = 0.67	$F_{6,24}$ = 1.13	$F_{6,24}$ = 0.80	$F_{6,18}$ = 1.94	$F_{6,18}$ = 1.80	-	-
	45-50 Hz	$F_{6,24}$ = 4.22 **	$F_{6,24}$ = 0.68	$F_{6,24}$ = 0.56	$F_{6,24}$ = 0.46	$F_{6,24}$ = 1.03	$F_{6,24}$ = 1.02	$F_{6,24}$ = 0.51	$F_{6,24}$ = 1.47	$F_{6,24}$ = 2.22	$F_{6,18}$ = 1.80	$F_{6,18}$ = 0.98	$F_{6,12}$ = 0.12
	50-55 Hz	$F_{6,24}$ = 2.24	$F_{6,24}$ = 0.44	$F_{6,24}$ = 0.98	$F_{6,24}$ = 0.88	$F_{6,24}$ = 0.77	$F_{6,24}$ = 0.50	$F_{6,24}$ = 0.38	$F_{6,24}$ = 0.67	$F_{6,24}$ = 1.16	$F_{6,24}$ = 2.00	$F_{6,18}$ = 1.40	$F_{6,18}$ = 0.47
	55-60 Hz	$F_{6,24}$ = 4.17 **	$F_{6,24}$ = 0.71	$F_{6,24}$ = 1.59	$F_{6,24}$ = 0.64	$F_{6,24}$ = 0.85	$F_{6,24}$ = 0.19	$F_{6,24}$ = 0.25	$F_{6,24}$ = 0.83	$F_{6,18}$ = 1.45	$F_{6,24}$ = 6,18	$F_{6,6}$ = 0.76	$F_{6,12}$ = 0.84
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{6,24}$ = 1.19	$F_{6,24}$ = 2.09	$F_{6,24}$ = 3.50 *	$F_{6,24}$ = 10.90 ***	$F_{6,24}$ = 2.33 #	$F_{6,24}$ = 0.69	$F_{6,24}$ = 1.23	$F_{6,24}$ = 1.02	$F_{6,18}$ = 1.76	$F_{6,18}$ = 0.84	$F_{6,24}$ = 1.70	$F_{6,18}$ = 1.01
	65-70 Hz	$F_{6,24}$ = 1.82	$F_{6,24}$ = 3.39 *	$F_{6,24}$ = 10.22 ***	$F_{6,24}$ = 4.95 *	$F_{6,24}$ = 3.51 *	$F_{6,24}$ = 1.56	$F_{6,24}$ = 1.60	$F_{6,24}$ = 1.52	$F_{6,18}$ = 1.31	$F_{6,12}$ = 1.41	$F_{6,18}$ = 1.27	$F_{6,12}$ = 0.29
	70-75 Hz	$F_{6,24}$ = 2.20	$F_{6,24}$ = 1.64	$F_{6,24}$ = 3.92 **	$F_{6,24}$ = 5.04 **	$F_{6,24}$ = 4.70 **	$F_{6,24}$ = 4.58 **	$F_{6,24}$ = 2.74 *	$F_{6,24}$ = 2.62 *	$F_{6,18}$ = 0.79	$F_{6,18}$ = 0.92	$F_{6,18}$ = 0.31	$F_{6,18}$ = 3.29
	75-80 Hz	$F_{6,24}$ = 1.07	$F_{6,24}$ = 0.70	$F_{6,24}$ = 1.28	$F_{6,24}$ = 3.54 *	$F_{6,24}$ = 3.03 *	$F_{6,24}$ = 4.56 **	$F_{6,24}$ = 3.44 *	$F_{6,24}$ = 1.53	$F_{6,18}$ = 1.51	$F_{6,24}$ = 0.63	$F_{6,18}$ = 0.64	$F_{6,18}$ = 0.63
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{6,24}$ = 0.95	$F_{6,24}$ = 0.66	$F_{6,24}$ = 0.70	$F_{6,24}$ = 0.97	$F_{6,24}$ = 1.31	$F_{6,24}$ = 3.66 *	$F_{6,24}$ = 2.27	$F_{6,24}$ = 1.00	$F_{6,18}$ = 1.17	$F_{6,18}$ = 1.60	$F_{6,24}$ = 0.69	$F_{6,18}$ = 0.26
	85-90 Hz	$F_{6,24}$ = 0.79	$F_{6,24}$ = 0.74	$F_{6,24}$ = 0.81	$F_{6,24}$ = 0.69	$F_{6,24}$ = 1.79	$F_{6,24}$ = 3.63 *	$F_{6,24}$ = 2.94 *	$F_{6,24}$ = 2.77 *	$F_{6,18}$ = 1.28	$F_{6,18}$ = 1.83	$F_{6,24}$ = 0.85	$F_{6,24}$ = 0.56
	90-95 Hz	$F_{6,24}$ = 0.76	$F_{6,24}$ = 1.10	$F_{6,24}$ = 1.69	$F_{6,24}$ = 0.44	$F_{6,24}$ = 0.96	$F_{6,24}$ = 1.63	$F_{6,24}$ = 2.30 #	$F_{6,24}$ = 2.28 #	$F_{6,18}$ = 0.79	$F_{6,18}$ = 1.81	$F_{6,18}$ = 0.12	$F_{6,24}$ = 0.35
	95-100 Hz	$F_{6,24}$ = 0.72	$F_{6,24}$ = 1.10	$F_{6,24}$ = 2.24	$F_{6,24}$ = 0.42	$F_{6,24}$ = 1.13	$F_{6,24}$ = 0.94	$F_{6,24}$ = 1.19	$F_{6,24}$ = 4.60 **	$F_{6,24}$ = 1.65	$F_{6,18}$ = 1.28	$F_{6,24}$ = 0.41	$F_{6,24}$ = 0.80
	100-105 Hz	$F_{6,24}$ = 0.70	$F_{6,24}$ = 0.99	$F_{6,24}$ = 2.51 *	$F_{6,24}$ = 0.44	$F_{6,24}$ = 1.03	$F_{6,24}$ = 0.59	$F_{6,24}$ = 1.02	$F_{6,24}$ = 4.28 **	$F_{6,24}$ = 0.94	$F_{6,18}$ = 1.64	$F_{6,24}$ = 1.06	$F_{6,24}$ = 1.48
	105-110 Hz	$F_{6,24}$ = 0.62	$F_{6,24}$ = 0.83	$F_{6,24}$ = 2.22	$F_{6,24}$ = 0.45	$F_{6,24}$ = 1.05	$F_{6,24}$ = 0.44	$F_{6,24}$ = 0.63	$F_{6,24}$ = 1.69	$F_{6,24}$ = 0.38	$F_{6,18}$ = 0.29	$F_{6,24}$ = 0.66	$F_{6,24}$ = 1.67

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Frecuencia	SW		Theta bajo					Theta alto				
	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	3-4 Hz	4-5 Hz	5-6 Hz	6-7 Hz	7-8 Hz	8-9 Hz	9-10 Hz	10-11 Hz	11-12 Hz
110-115 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =
	0.67	0.67	1.95	0.49	0.88	0.38	1.91	1.09	0.61	0.36	0.26	0.86
115-120 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =						
	1.06	1.18	1.88	0.46	1.90	1.15	2.56 *	0.60	0.64	0.61	0.33	0.92
HFO												
120-125 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =						
	2.20	1.71	1.97	0.46	1.16	1.13	1.61	1.27	1.82	0.74	0.79	0.86
125-130 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =									
	2.91 *	1.82	1.98	0.61	1.31	1.24	1.65	1.20	1.13	0.34	1.02	1.13
130-135 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =									
	2.52 *	1.70	1.57	0.87	1.11	0.88	1.69	2.19	0.95	0.55	0.48	1.31
135-140 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =								
	2.25	1.65	1.52	1.06	1.26	1.28	0.78	2.07	0.80	1.03	0.79	0.61
140-145 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,24}$ =								
	1.83	1.72	1.94	1.19	1.81	1.00	0.70	1.45	0.34	1.42	1.55	0.64
145-150 Hz	$F_{6,24}$ =	$F_{6,18}$ =	$F_{6,18}$ =									
	1.59	1.46	2.06	1.15	1.99	1.11	0.87	0.74	0.74	1.22	1.16	1.41
150-155 Hz	$F_{6,24}$ =											
	1.27	0.95	2.04	0.96	2.01	1.02	0.51	0.70	0.75	0.75	1.40	0.43
155-160 Hz	$F_{6,24}$ =											
	0.89	0.92	1.37	1.00	1.51	0.94	0.70	0.70	0.85	0.36	1.18	0.56
160-165 Hz	$F_{6,24}$ =											
	0.97	0.94	1.02	1.02	1.43	0.83	0.80	0.70	1.03	0.22	0.30	0.34
165-170 Hz	$F_{6,24}$ =											
	1.09	0.89	0.88	0.99	1.31	0.82	0.82	0.65	0.78	0.15	0.34	0.52
170-175 Hz	$F_{6,24}$ =											
	1.34	0.75	1.06	1.57	7.83 ***	8.10 ***	3.70 *	0.63	1.56	0.19	0.28	0.38
175-180 Hz	$F_{6,24}$ =											
	1.81	1.14	1.52	1.60	15.60 ***	8.45 ***	1.65	1.14	2.64 *	0.43	1.64	0.25
180-185 Hz	$F_{6,24}$ =											
	1.35	0.93	1.78	1.60	7.19 ***	7.74 ***	2.73 *	1.07	2.39 #	0.65	1.49	2.94 *
185-190 Hz	$F_{6,24}$ =											
	1.06	0.83	1.55	2.36	1.38	1.39	2.60 *	0.68	3.95 **	0.85	3.28 *	1.02
190-195 Hz	$F_{6,24}$ =	-										
	1.10	0.79	1.38	3.55 *	1.41	1.56	3.18 *	0.87	4.60 **	0.81	1.82	
195,200 Hz	$F_{6,24}$ =											
	1.04	0.76	1.75	4.82 **	1.73	1.73	2.92 *	0.86	2.78 *	0.58	1.04	1.12

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Tabla Supl. 4: Valores estadísticos de cada rango de los comodulogramas de vmPFC (30 mg/kg)

Frecuencia	SW		Theta bajo					Theta alto					
	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	3-4 Hz	4-5 Hz	5-6 Hz	6-7 Hz	7-8 Hz	8-9 Hz	9-10 Hz	10-11 Hz	11-12 Hz	
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	-	-	-	-
		1.38	1.72	1.52	1.19	2.16	0.62	1.12	0.94				
	35-40 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,16}$ =	-	-	-
		0.75	0.86	1.08	1.21	0.88	3.51 ***	2.16	0.87	1.32			
	40-45 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	-	-	-
		0.49	0.82	1.30	2.51 *	2.23 *	3.32 *	0.72	2.25	0.94			
45-50 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,16}$ =	
	0.65	0.74	1.18	1.65	3.46 **	2.45 *	0.67	0.92	0.24	1.01	0.68	1.05	
50-55 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,8}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	
	0.75	0.61	0.74	0.94	1.73	1.24	0.90	0.75	0.27	0.72	1.22	0.61	
55-60 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,24}$ =	
	0.76	0.63	0.71	1.11	1.52	0.62	0.62	0.67	1.45	0.49	0.52	1.02	
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =
		0.58	0.81	0.86	0.95	1.40	0.78	1.03	0.63	0.22	0.87	0.27	3.20
	65-70 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,8}$ =	$F_{8,24}$ =
		0.77	0.81	0.60	0.93	1.11	1.00	0.87	0.56	0.50	0.82	0.68	1.03
70-75 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,8}$ =	$F_{8,24}$ =	
	0.93	0.81	0.54	0.91	0.98	2.40 *	0.89	0.48	0.28	0.53	0.47	1.13 *	
75-80 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	
	1.63	0.93	0.82	1.00	1.06	1.04	0.45	0.30	0.80	2.23	0.96	0.43	
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	
		2.66 *	1.02	0.95	1.49	1.69	1.18	0.95	0.41	0.71	2.53 *	0.72	0.48
	85-90 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =							
		3.14 *	1.10	1.32	1.79	2.04	1.35	1.11	0.49	1.01	2.03	1.09	0.51
	90-95 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =						
		2.35 *	1.19	1.28	1.90	2.77 *	1.70	1.79	0.49	0.63	2.98 *	2.06	0.54
	95-100 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =						
		2.22 #	0.85	1.32	1.79	2.11 #	2.89 *	1.69	0.53	1.24	1.14	1.86	0.20
100-105 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =							
	2.07	0.82	1.36	1.46	1.82	2.95 *	1.06	0.77	0.66	1.05	1.85	0.43	
105-110 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,16}$ =	
	1.95	0.91	1.30	1.03	1.31	3.27 *	1.43	1.92	1.68	0.59	1.21	0.50	
110-115 Hz	$F_{8,32}$ =	$F_{8,16}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,32}$ =	$F_{8,24}$ =	$F_{8,24}$ =							
	1.76	1.36	1.40	2.74 *	2.90 *	4.52 ***	2.00	1.50	2.08	0.63	1.48	0.80	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Frecuencia	SW		Theta bajo					Theta alto					
	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	3-4 Hz	4-5 Hz	5-6 Hz	6-7 Hz	7-8 Hz	8-9 Hz	9-10 Hz	10-11 Hz	11-12 Hz	
115-120 Hz	$F_{8,32}$ = 1.70	$F_{8,32}$ = 2.08	$F_{8,32}$ = 2.35 *	$F_{8,32}$ = 3.44 **	$F_{8,32}$ = 4.28 **	$F_{8,32}$ = 5.26 ***	$F_{8,32}$ = 2.02	$F_{8,24}$ = 1.33	$F_{8,24}$ = 0.61	$F_{8,32}$ = 1.42	$F_{8,32}$ = 0.80	$F_{8,24}$ = 1.32	
HFO	120-125 Hz	$F_{8,32}$ = 1.66	$F_{8,32}$ = 2.71 *	$F_{8,32}$ = 2.65 *	$F_{8,32}$ = 3.93 **	$F_{8,32}$ = 4.95 ***	$F_{8,32}$ = 5.79 ***	$F_{8,32}$ = 2.55 *	$F_{8,24}$ = 2.82 *	$F_{8,24}$ = 0.62	$F_{8,32}$ = 1.90	$F_{8,32}$ = 1.92	$F_{8,16}$ = 1.24
	125-130 Hz	$F_{8,32}$ = 1.82	$F_{8,32}$ = 2.55 *	$F_{8,32}$ = 2.55 *	$F_{8,32}$ = 4.51 ***	$F_{8,32}$ = 4.39 **	$F_{8,32}$ = 3.99 **	$F_{8,32}$ = 3.32 **	$F_{8,32}$ = 5.13 ***	$F_{8,16}$ = 0.73	$F_{8,32}$ = 3.24 **	$F_{8,32}$ = 2.95 *	$F_{8,32}$ = 0.68
	130-135 Hz	$F_{8,32}$ = 1.75	$F_{8,32}$ = 1.89	$F_{8,32}$ = 2.13 #	$F_{8,32}$ = 4.31 **	$F_{8,32}$ = 4.83 ***	$F_{8,32}$ = 4.08 **	$F_{8,32}$ = 3.73 **	$F_{8,24}$ = 2.21 **	$F_{8,16}$ = 0.87	$F_{8,24}$ = 2.06	$F_{8,32}$ = 2.33 **	$F_{8,24}$ = 0.54
	135-140 Hz	$F_{8,32}$ = 1.59	$F_{8,32}$ = 1.51	$F_{8,32}$ = 1.81	$F_{8,32}$ = 4.18 **	$F_{8,32}$ = 4.04 **	$F_{8,32}$ = 2.41 *	$F_{8,32}$ = 3.41 **	$F_{8,24}$ = 1.22	$F_{8,32}$ = 1.36	$F_{8,32}$ = 2.93 *	$F_{8,32}$ = 1.94	$F_{8,24}$ = 1.00
	140-145 Hz	$F_{8,32}$ = 1.32	$F_{8,32}$ = 1.19	$F_{8,32}$ = 1.99	$F_{8,32}$ = 4.25 **	$F_{8,32}$ = 4.06 **	$F_{8,32}$ = 4.38 **	$F_{8,32}$ = 1.62	$F_{8,32}$ = 0.95	$F_{8,24}$ = 0.93	$F_{8,32}$ = 1.55	$F_{8,32}$ = 1.57	$F_{8,32}$ = 1.95
	145-150 Hz	$F_{8,32}$ = 1.29	$F_{8,32}$ = 1.15	$F_{8,32}$ = 1.23	$F_{8,32}$ = 2.81 *	$F_{8,32}$ = 3.03 *	$F_{8,32}$ = 2.58 *	$F_{8,32}$ = 2.04	$F_{8,32}$ = 0.66	$F_{8,32}$ = 0.74	$F_{8,32}$ = 0.49	$F_{8,32}$ = 0.41	$F_{8,32}$ = 1.01
	150-155 Hz	$F_{8,32}$ = 1.38	$F_{8,32}$ = 0.90	$F_{8,32}$ = 0.73	$F_{8,32}$ = 2.86 *	$F_{8,32}$ = 1.70	$F_{8,32}$ = 2.55 *	$F_{8,24}$ = 1.25	$F_{8,32}$ = 1.01	$F_{8,32}$ = 0.39	$F_{8,32}$ = 1.21	$F_{8,32}$ = 0.80	$F_{8,32}$ = 1.25
	155-160 Hz	$F_{8,32}$ = 1.76	$F_{8,32}$ = 0.83	$F_{8,32}$ = 1.19	$F_{8,32}$ = 1.31	$F_{8,32}$ = 0.91	$F_{8,32}$ = 2.44 *	$F_{8,24}$ = 1.17	$F_{8,24}$ = 0.82	$F_{8,32}$ = 0.82	$F_{8,32}$ = 1.16	$F_{8,32}$ = 0.74	$F_{8,32}$ = 0.42
	160-165 Hz	$F_{8,32}$ = 1.92	$F_{8,32}$ = 0.84	$F_{8,32}$ = 1.11	$F_{8,32}$ = 1.38	$F_{8,32}$ = 0.76	$F_{8,32}$ = 2.06	$F_{8,32}$ = 0.82	$F_{8,24}$ = 0.82	$F_{8,24}$ = 0.94	$F_{8,32}$ = 1.26	$F_{8,32}$ = 0.48	$F_{8,32}$ = 0.46
	165-170 Hz	$F_{8,32}$ = 1.83	$F_{8,32}$ = 0.83	$F_{8,32}$ = 1.07	$F_{8,32}$ = 1.33	$F_{8,32}$ = 0.72	$F_{8,32}$ = 1.55	$F_{8,24}$ = 1.11	$F_{8,24}$ = 0.98	$F_{8,32}$ = 1.09	$F_{8,32}$ = 1.35	$F_{8,32}$ = 0.49	$F_{8,32}$ = 0.37
	170-175 Hz	$F_{8,32}$ = 1.75	$F_{8,32}$ = 0.77	$F_{8,32}$ = 1.04	$F_{8,32}$ = 0.90	$F_{8,32}$ = 0.69	$F_{8,32}$ = 1.81	$F_{8,24}$ = 0.98	$F_{8,24}$ = 1.06	$F_{8,32}$ = 0.99	$F_{8,32}$ = 1.74	$F_{8,32}$ = 0.72	$F_{8,16}$ = 0.30
	175-180 Hz	$F_{8,32}$ = 1.77	$F_{8,32}$ = 0.74	$F_{8,32}$ = 0.95	$F_{8,32}$ = 0.63	$F_{8,32}$ = 0.49	$F_{8,32}$ = 1.16	$F_{8,32}$ = 1.00	$F_{8,24}$ = 1.19	$F_{8,32}$ = 0.70	$F_{8,32}$ = 0.70	$F_{8,24}$ = 0.97	$F_{8,16}$ = 1.21
	180-185 Hz	$F_{8,32}$ = 1.84	$F_{8,32}$ = 0.70	$F_{8,32}$ = 0.61	$F_{8,32}$ = 0.89	$F_{8,32}$ = 0.52	$F_{8,32}$ = 0.72	$F_{8,32}$ = 1.19	$F_{8,24}$ = 0.90	$F_{8,32}$ = 0.50	$F_{8,32}$ = 1.74	$F_{8,24}$ = 0.77	$F_{8,16}$ = 1.16 *
	185-190 Hz	$F_{8,32}$ = 1.86	$F_{8,32}$ = 0.68	$F_{8,32}$ = 0.62	$F_{8,32}$ = 0.73	$F_{8,32}$ = 0.57	$F_{8,32}$ = 0.69	$F_{8,32}$ = 1.56	$F_{8,32}$ = 0.82	$F_{8,24}$ = 0.63	$F_{8,24}$ = 1.67	$F_{8,24}$ = 0.80	$F_{8,16}$ = 1.28
	190-195 Hz	$F_{8,32}$ = 1.97	$F_{8,32}$ = 0.68	$F_{8,32}$ = 0.62	$F_{8,32}$ = 0.55	$F_{8,32}$ = 0.45	$F_{8,32}$ = 0.74	$F_{8,32}$ = 1.68	$F_{8,32}$ = 0.74	$F_{8,24}$ = 0.74	$F_{8,24}$ = 1.20	$F_{8,24}$ = 0.76	-
	195,200 Hz	$F_{8,32}$ = 2.05	$F_{8,32}$ = 0.70	$F_{8,32}$ = 0.69	$F_{8,32}$ = 0.52	$F_{8,32}$ = 0.40	$F_{8,32}$ = 0.80	$F_{8,24}$ = 1.92	$F_{8,32}$ = 0.75	$F_{8,24}$ = 0.62	$F_{8,32}$ = 1.70	$F_{8,24}$ = 0.67	$F_{8,24}$ = 1.01

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Tabla Supl. 5: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas intraestructura de HPCd

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias		0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{1,1,10} = 0.19$	$F_{1,9,4} = 0.10$	$F_{1,1,9,5} = 0.48$	$F_{1,9} = 0.11$	$F_{1,9} = 0.13$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,1,10} = 0.16$	$F_{1,9,4} = 0.16$	$F_{1,1,9,5} = 0.15$
	35-40 Hz	$F_{1,1,10} = 0.14$	$F_{1,9,1} = 0.01$	$F_{1,9,3} = 0.20$	$F_{1,9} = 2.43$	$F_{1,9} = 1.29$	$F_{1,9} = 0.07$	$F_{1,1,10} = 0.87$	$F_{1,9,1} = 0.16$	$F_{1,9,3} = 0.07$
	40-45 Hz	$F_{1,1,9,6} = 0.25$	$F_{1,9,2} = 0.05$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{1,9} = 1.20$	$F_{1,9} = 0.31$	$F_{1,9} = 0.50$	$F_{1,1,9,6} = 0.49$	$F_{1,9,2} = 0.07$	$F_{1,9} = 0.20$
	45-50 Hz	$F_{1,9,2} = 0.34$	$F_{1,9,3} = 0.06$	$F_{1,9,2} = 0.03$	$F_{1,9} = 0.84$	$F_{1,9} = 3.06$	$F_{1,9} = 2.52$	$F_{1,9,2} = 0.40$	$F_{1,9,3} = 0.40$	$F_{1,9,2} = 0.99$
	50-55 Hz	$F_{1,9,3} = 0.07$	$F_{1,9,2} = 0.05$	$F_{1,9,3} = 0.10$	$F_{1,9} = 11.85^{***}$	$F_{1,9} = 1.70$	$F_{1,9} = 3.21$	$F_{1,9,3} = 0.66$	$F_{1,9,2} = 0.34$	$F_{1,9,3} = 1.34$
	55-60 Hz	$F_{1,9,1} = 0.15$	$F_{1,9,3} = 0.06$	$F_{1,9,3} = 0.14$	$F_{1,9} = 4.25$	$F_{1,9} = 0.46$	$F_{1,9} = 1.44$	$F_{1,9,1} = 0.25$	$F_{1,9,3} = 0.12$	$F_{1,9,3} = 0.46$
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{1,9,1} = 0.12$	$F_{1,9,1} = 0.02$	$F_{1,9,1} = 0.07$	$F_{1,9} = 0.79$	$F_{1,9} = 0.06$	$F_{1,9} = 0.11$	$F_{1,9,1} = 0.14$	$F_{1,9,1} = 0.02$	$F_{1,9,1} = 0.07$
	65-70 Hz	$F_{1,9,2} = 0.09$	$F_{1,9,2} = 0.02$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.62$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9,2} = 0.09$	$F_{1,9,2} = 0.15$	$F_{1,9} = 0.01$
	70-75 Hz	$F_{1,9,2} = 0.06$	$F_{1,9,4} = 0.02$	$F_{1,9,1} = 0.04$	$F_{1,9} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9,2} = 0.06$	$F_{1,9,4} = 0.01$	$F_{1,9,1} = 0.01$
	75-80 Hz	$F_{1,9,3} = 0.01$	$F_{1,1,9,4} = 0.02$	$F_{1,9,2} = 0.12$	$F_{1,9} = 0.08$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{1,9} = 0.11$	$F_{1,9,3} = 0.04$	$F_{1,1,9,4} = 0.03$	$F_{1,9,2} = 0.04$
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{1,9,3} = 0.03$	$F_{1,9,4} = 0.01$	$F_{1,9,3} = 0.16$	$F_{1,9} = 0.18$	$F_{1,9} = 0.35$	$F_{1,9} = 0.26$	$F_{1,9,3} = 0.03$	$F_{1,9,4} = 0.07$	$F_{1,9,3} = 0.08$
	85-90 Hz	$F_{1,9,2} = 0.05$	$F_{1,9,4} = 0.01$	$F_{1,9,2} = 0.12$	$F_{1,9} = 0.24$	$F_{1,9} = 0.37$	$F_{1,9} = 0.16$	$F_{1,9,2} = 0.09$	$F_{1,9,4} = 0.09$	$F_{1,9,2} = 0.07$
	90-95 Hz	$F_{1,9,4} = 0.08$	$F_{1,1,9,4} = 0.01$	$F_{1,9,2} = 0.09$	$F_{1,9} = 0.81$	$F_{1,9} = 0.56$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{1,9,4} = 0.23$	$F_{1,1,9,4} = 0.11$	$F_{1,9,2} = 0.08$
	95-100 Hz	$F_{1,9,3} = 0.16$	$F_{1,1,9,5} = 0.01$	$F_{1,9,3} = 0.10$	$F_{1,9} = 1.52$	$F_{1,9} = 0.53$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9,3} = 0.35$	$F_{1,1,9,5} = 0.11$	$F_{1,9,3} = 0.07$
	100-105 Hz	$F_{1,9,2} = 0.22$	$F_{1,1,9,5} = 0.01$	$F_{1,9,4} = 0.14$	$F_{1,9} = 1.98$	$F_{1,9} = 0.59$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{1,9,2} = 0.40$	$F_{1,1,9,5} = 0.12$	$F_{1,9,4} = 0.09$
	105-110 Hz	$F_{1,9,2} = 0.22$	$F_{1,1,9,7} = 0.01$	$F_{1,1,9,4} = 0.17$	$F_{1,9} = 1.93$	$F_{1,9} = 0.83$	$F_{1,9} = 0.06$	$F_{1,9,2} = 0.38$	$F_{1,1,9,7} = 0.17$	$F_{1,1,9,4} = 0.11$
	110-115 Hz	$F_{1,9,2} = 0.28$	$F_{1,1,9,8} = 0.04$	$F_{1,1,9,6} = 0.22$	$F_{1,9} = 2.24$	$F_{1,9} = 1.57$	$F_{1,9} = 0.15$	$F_{1,9,2} = 0.37$	$F_{1,1,9,8} = 0.24$	$F_{1,1,9,6} = 0.11$
115-120 Hz	$F_{1,9,1} = 0.30$	$F_{1,1,9,8} = 0.13$	$F_{1,1,9,5} = 0.25$	$F_{1,9} = 2.48$	$F_{1,9} = 3.90$	$F_{1,9} = 0.74$	$F_{1,9,1} = 0.36$	$F_{1,1,9,8} = 0.36$	$F_{1,1,9,5} = 0.15$	
HFO	120-125 Hz	$F_{1,9,1} = 0.30$	$F_{1,1,9,7} = 0.15$	$F_{1,9,4} = 0.32$	$F_{1,9} = 1.58$	$F_{1,9} = 6.08$	$F_{1,9} = 1.57$	$F_{1,9,1} = 0.19$	$F_{1,1,9,7} = 0.47$	$F_{1,9,4} = 0.16$
	125-130 Hz	$F_{1,9,1} = 0.38$	$F_{1,1,9,8} = 0.17$	$F_{1,1,9,4} = 0.40$	$F_{1,9} = 1.38$	$F_{1,9} = 6.65^*$	$F_{1,9} = 1.87$	$F_{1,9,1} = 0.15$	$F_{1,1,9,8} = 0.50$	$F_{1,1,9,4} = 0.14$
	130-135 Hz	$F_{1,9,1} = 0.40$	$F_{1,1,9,8} = 0.20$	$F_{1,1,9,5} = 0.44$	$F_{1,9} = 2.17$	$F_{1,9} = 6.70^*$	$F_{1,9} = 2.15$	$F_{1,9,1} = 0.22$	$F_{1,1,9,8} = 0.52$	$F_{1,1,9,5} = 0.13$
	135-140 Hz	$F_{1,9,1} = 0.35$	$F_{1,1,9,8} = 0.24$	$F_{1,1,9,7} = 0.51$	$F_{1,9} = 2.29$	$F_{1,9} = 6.44^*$	$F_{1,9} = 2.10$	$F_{1,9,1} = 0.23$	$F_{1,1,9,8} = 0.57$	$F_{1,1,9,7} = 0.15$
	140-145 Hz	$F_{1,9,1} = 0.33$	$F_{1,1,9,9} = 0.30$	$F_{1,1,9,7} = 0.67$	$F_{1,9} = 2.37$	$F_{1,9} = 6.17^*$	$F_{1,9} = 2.08$	$F_{1,9,1} = 0.25$	$F_{1,1,9,9} = 0.62$	$F_{1,1,9,7} = 0.18$
	145-150 Hz	$F_{1,9,1} = 0.29$	$F_{1,1,10} = 0.35$	$F_{1,1,9,6} = 0.68$	$F_{1,9} = 3.55$	$F_{1,9} = 5.86^*$	$F_{1,9} = 1.75$	$F_{1,9,1} = 0.41$	$F_{1,1,10} = 0.60$	$F_{1,1,9,6} = 0.17$
	150-155 Hz	$F_{1,1,9,5} = 0.26$	$F_{1,1,9,6} = 0.26$	$F_{1,9,4} = 0.44$	$F_{1,9} = 3.66$	$F_{1,9} = 3.79$	$F_{1,9} = 1.44$	$F_{1,1,9,5} = 0.66$	$F_{1,1,9,6} = 0.44$	$F_{1,9,4} = 0.12$
	155-160 Hz	$F_{1,1,9,8} = 0.23$	$F_{1,9,3} = 0.20$	$F_{1,9,3} = 0.32$	$F_{1,9} = 2.39$	$F_{1,9} = 2.72$	$F_{1,9} = 0.83$	$F_{1,1,9,8} = 0.51$	$F_{1,9,3} = 0.35$	$F_{1,9,3} = 0.09$
	160-165 Hz	$F_{1,1,9,8} = 0.15$	$F_{1,9,3} = 0.18$	$F_{1,9,3} = 0.29$	$F_{1,9} = 1.60$	$F_{1,9} = 2.44$	$F_{1,9} = 0.71$	$F_{1,1,9,8} = 0.37$	$F_{1,1,9,3} = 0.34$	$F_{1,1,9,3} = 0.09$

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	
165-170 Hz	$F_{1,1,9,6}$ = 0.08	$F_{1,9,2}$ = 0.17	$F_{1,9,2}$ = 0.28	$F_{1,9}$ = 1.26	$F_{1,9}$ = 2.23	$F_{1,9}$ = 0.66	$F_{1,1,9,6}$ = 0.28	$F_{1,9,2}$ = 0.32	$F_{1,9,2}$ = 0.09	
170-175 Hz	$F_{1,9,4}$ = 0.07	$F_{1,9,2}$ = 0.16	$F_{1,9,2}$ = 0.23	$F_{1,9}$ = 1.02	$F_{1,9}$ = 2.04	$F_{1,9}$ = 0.61	$F_{1,9,4}$ = 0.20	$F_{1,9,2}$ = 0.30	$F_{1,9,2}$ = 0.10	
175-180 Hz	$F_{1,9,4}$ = 0.07	$F_{1,9,3}$ = 0.14	$F_{1,9,2}$ = 0.19	$F_{1,9}$ = 0.71	$F_{1,9}$ = 1.93	$F_{1,9}$ = 0.71	$F_{1,9,4}$ = 0.10	$F_{1,9,3}$ = 0.28	$F_{1,9,2}$ = 0.14	
180-185 Hz	$F_{1,1,9,6}$ = 0.06	$F_{1,9,3}$ = 0.11	$F_{1,9,2}$ = 0.19	$F_{1,9}$ = 0.44	$F_{1,9}$ = 1.65	$F_{1,9}$ = 0.85	$F_{1,1,9,6}$ = 0.06	$F_{1,9,3}$ = 0.23	$F_{1,9,2}$ = 0.18	
185-190 Hz	$F_{1,1,9,6}$ = 0.04	$F_{1,9,3}$ = 0.12	$F_{1,9,2}$ = 0.23	$F_{1,9}$ = 0.55	$F_{1,9}$ = 1.46	$F_{1,9}$ = 0.64	$F_{1,1,9,6}$ = 0.09	$F_{1,9,3}$ = 0.20	$F_{1,9,2}$ = 0.16	
190-195 Hz	$F_{1,1,9,6}$ = 0.02	$F_{1,9,3}$ = 0.13	$F_{1,9,2}$ = 0.27	$F_{1,9}$ = 0.60	$F_{1,9}$ = 1.35	$F_{1,9}$ = 0.44	$F_{1,1,9,6}$ = 0.11	$F_{1,9,3}$ = 0.18	$F_{1,9,2}$ = 0.14	
195-200 Hz	$F_{1,1,9,7}$ = 0.01	$F_{1,9,3}$ = 0.14	$F_{1,9,2}$ = 0.32	$F_{1,9}$ = 0.58	$F_{1,9}$ = 1.21	$F_{1,9}$ = 0.27	$F_{1,1,9,7}$ = 0.11	$F_{1,9,3}$ = 0.16	$F_{1,9,2}$ = 0.10	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Tabla Supl. 6: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas intraestructura de vmPFC

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias		0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.14$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{1,9} = 2.05$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.06$
	35-40 Hz	$F_{2,18} = 0.11$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.24$	$F_{1,9} = 0.11$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$
	40-45 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{1,9} = 0.37$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 1.03$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$
	45-50 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{1,9} = 0.13$	$F_{1,9} = 0.21$	$F_{1,9} = 0.08$	$F_{2,18} = 2.90$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.15$
	50-55 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.12$	$F_{1,9} = 0.10$	$F_{1,9} = 1.57$	$F_{1,9} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.26$	$F_{2,18} = 0.01$
	55-60 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.19$	$F_{1,9} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.04$
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.26$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{1,9} = 0.14$	$F_{1,9} = 1.48$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.11$
	65-70 Hz	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{2,18} = 0.41$	$F_{2,18} = 0.61$	$F_{1,9} = 0.16$	$F_{1,9} = 0.04$	$F_{1,9} = 1.77$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.06$
	70-75 Hz	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.68$	$F_{2,18} = 0.84$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{1,9} = 0.24$	$F_{1,9} = 1.54$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$
	75-80 Hz	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.56$	$F_{2,18} = 0.91$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.03$	$F_{1,9} = 0.91$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.35$	$F_{1,9} = 0.78$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.12$	$F_{2,18} = 0.68$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$
	85-90 Hz	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.51$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.04$	$F_{1,9} = 0.57$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$
	90-95 Hz	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{2,18} = 0.34$	$F_{1,9} = 0.03$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.88$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.06$
	95-100 Hz	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.24$	$F_{1,9} = 0.03$	$F_{1,9} = 0.26$	$F_{1,9} = 0.55$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$
	100-105 Hz	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{1,9} = 0.09$	$F_{1,9} = 0.89$	$F_{1,9} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.01$
	105-110 Hz	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.35$	$F_{1,9} = 2.08$	$F_{1,9} = 0.23$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{2,18} = 0.01$
	110-115 Hz	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{1,9} = 0.74$	$F_{1,9} = 2.73$	$F_{1,9} = 0.50$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.01$
	115-120 Hz	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{1,9} = 0.66$	$F_{1,9} = 2.23$	$F_{1,9} = 0.33$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.01$
HFO	120-125 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.25$	$F_{1,9} = 0.19$	$F_{1,9} = 1.68$	$F_{1,9} = 0.49$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.02$
	125-130 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.23$	$F_{1,9} = 0.32$	$F_{1,9} = 0.90$	$F_{1,9} = 0.46$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.02$
	130-135 Hz	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.22$	$F_{1,9} = 0.56$	$F_{1,9} = 0.69$	$F_{1,9} = 0.49$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$
	135-140 Hz	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.23$	$F_{1,9} = 1.10$	$F_{1,9} = 0.86$	$F_{1,9} = 0.76$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.04$
	140-145 Hz	$F_{2,18} = 0.26$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.22$	$F_{1,9} = 1.07$	$F_{1,9} = 1.06$	$F_{1,9} = 1.02$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.06$
	145-150 Hz	$F_{2,18} = 0.45$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.14$	$F_{1,9} = 0.41$	$F_{1,9} = 1.06$	$F_{1,9} = 0.41$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.02$
	150-155 Hz	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.69$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.01$
	155-160 Hz	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{1,9} = 0.17$	$F_{1,9} = 0.62$	$F_{1,9} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.03$
	160-165 Hz	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{1,9} = 0.26$	$F_{1,9} = 0.59$	$F_{1,9} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.04$

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	
165-170 Hz	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{1,9} = 0.33$	$F_{1,9} = 0.62$	$F_{1,9} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.03$	
170-175 Hz	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.12$	$F_{1,9} = 0.66$	$F_{1,9} = 0.72$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	
175-180 Hz	$F_{2,18} = 0.27$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.21$	$F_{1,9} = 1.30$	$F_{1,9} = 0.74$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	
180-185 Hz	$F_{2,18} = 0.44$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{1,9} = 0.34$	$F_{1,9} = 0.51$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	
185-190 Hz	$F_{2,18} = 0.38$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.28$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	
190-195 Hz	$F_{2,18} = 0.34$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.16$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$	
195-200 Hz	$F_{2,18} = 0.28$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Tabla Supl. 7: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas entre-estructuras (Fase de HPCd y amplitud de vmPFC)

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias		0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.23$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{1,9} = 4.67$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.21$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$
	35-40 Hz	$F_{2,18} = 0.26$	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{1,9} = 3.83$	$F_{1,9} = 5.72 *$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.34$	$F_{2,18} = 0.46$
	40-45 Hz	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{1,9} = 1.12$	$F_{1,9} = 1.09$	$F_{1,9} = 0.78$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.02$
	45-50 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.13$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{1,9} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$
	50-55 Hz	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{1,9} = 2.22$	$F_{1,9} = 1.96$	$F_{1,9} = 0.89$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.25$	$F_{2,18} = 0.10$
	55-60 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{1,9} = 1.18$	$F_{1,9} = 1.18$	$F_{1,9} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.25$	$F_{1,9} = 1.55$	$F_{1,9} = 0.18$	$F_{1,9} = 0.41$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$
	65-70 Hz	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{1,9} = 11.02 **$	$F_{1,9} = 0.58$	$F_{1,9} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$
	70-75 Hz	$F_{2,18} = 0.21$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{1,9} = 1.76$	$F_{1,9} = 0.06$	$F_{1,9} = 4.67$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.08$
	75-80 Hz	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.12$	$F_{1,9} = 1.73$	$F_{1,9} = 1.00$	$F_{1,9} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.13$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{2,18} = 0.27$	$F_{2,18} = 0.13$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{1,9} = 0.15$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$
	85-90 Hz	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.75$	$F_{1,9} = 0.41$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.01$
	90-95 Hz	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{1,9} = 1.79$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.13$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$
	95-100 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{1,9} = 1.03$	$F_{1,9} = 1.46$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.01$
	100-105 Hz	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.11$	$F_{1,9} = 1.91$	$F_{1,9} = 1.61$	$F_{1,9} = 1.47$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.13$
	105-110 Hz	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.18$	$F_{1,9} = 1.68$	$F_{1,9} = 1.89$	$F_{1,9} = 2.55$	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.13$	$F_{2,18} = 0.16$
	110-115 Hz	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{1,9} = 1.57$	$F_{1,9} = 0.16$	$F_{1,9} = 1.79$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.14$
	115-120 Hz	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{1,9} = 0.45$	$F_{1,9} = 8.99 *$	$F_{1,9} = 1.13$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.68$	$F_{2,18} = 0.11$
HFO	120-125 Hz	$F_{2,18} = 0.44$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.86$	$F_{1,9} = 1.00$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.13$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$
	125-130 Hz	$F_{2,18} = 0.44$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{1,9} = 2.57$	$F_{1,9} = 4.40$	$F_{1,9} = 1.88$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.33$	$F_{2,18} = 0.14$
	130-135 Hz	$F_{2,18} = 0.61$	$F_{2,18} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{1,9} = 3.49$	$F_{1,9} = 5.92 *$	$F_{1,9} = 6.83 *$	$F_{2,18} = 0.40$	$F_{2,18} = 0.93$	$F_{2,18} = 0.62$
	135-140 Hz	$F_{2,18} = 0.12$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{2,18} = 0.11$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 1.30$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.09$
	140-145 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.54$	$F_{1,9} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.24$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$
	145-150 Hz	$F_{2,18} = 0.36$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 1.43$	$F_{1,9} = 1.18$	$F_{1,9} = 1.10$	$F_{1,9} = 4.75$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.08$
	150-155 Hz	$F_{2,18} = 0.81$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{1,9} = 1.52$	$F_{1,9} = 3.64$	$F_{1,9} = 0.25$	$F_{2,18} = 0.13$	$F_{2,18} = 0.24$	$F_{2,18} = 0.03$
	155-160 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.18$	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 1.85$	$F_{1,9} = 0.19$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.31$	$F_{2,18} = 0.02$
160-165 Hz	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.26$	$F_{2,18} = 0.48$	$F_{1,9} = 5.04$	$F_{1,9} = 1.51$	$F_{1,9} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.17$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.01$	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	
165-170 Hz	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{2,18} = 0.26$	$F_{1,9} = 0.25$	$F_{1,9} = 4.93$	$F_{1,9} = 0.40$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.30$	$F_{2,18} = 0.02$	
170-175 Hz	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.35$	$F_{1,9} = 0.26$	$F_{1,9} = 3.55$	$F_{1,9} = 3.07$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.36$	$F_{2,18} = 0.52$	
175-180 Hz	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.31$	$F_{1,9} = 0.39$	$F_{1,9} = 0.81$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.01$	
180-185 Hz	$F_{2,18} = 0.18$	$F_{2,18} = 0.53$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{1,9} = 1.12$	$F_{1,9} = 4.38$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.22$	$F_{2,18} = 0.01$	
185-190 Hz	$F_{2,18} = 0.25$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.80$	$F_{1,9} = 2.18$	$F_{1,9} = 0.34$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.12$	$F_{2,18} = 0.02$	
190-195 Hz	$F_{2,18} = 1.06$	$F_{2,18} = 0.37$	$F_{2,18} = 0.39$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 1.89$	$F_{1,9} = 2.12$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.31$	$F_{2,18} = 0.33$	
195-200 Hz	$F_{2,18} = 0.22$	$F_{2,18} = 0.41$	$F_{2,18} = 0.88$	$F_{1,9} = 0.09$	$F_{1,9} = 0.72$	$F_{1,9} = 7.07 *$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.33$	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Tabla Supl. 8: Valores estadísticos de los factores e interacción de cada rango de los comodulogramas entre-estructuras (Fase de vmPFC y amplitud de HPCd)

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias		0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz
Gamma bajo	30-35 Hz	$F_{2,18} = 7.21^{**}$	$F_{1,2,10.7} = 2.84$	$F_{2,18} = 2.87$	$F_{1,9} = 5.49^*$	$F_{1,9} = 1.40$	$F_{1,9} = 1.48$	$F_{2,18} = 4.16^*$	$F_{1,2,10.7} = 1.99$	$F_{2,18} = 2.01$
	35-40 Hz	$F_{2,18} = 8.18^{**}$	$F_{1,1,9.7} = 3.77$	$F_{1,2,10.7} = 1.39$	$F_{1,9} = 2.53$	$F_{1,9} = 3.60$	$F_{1,9} = 1.51$	$F_{2,18} = 5.53^*$	$F_{1,2,9.7} = 1.42$	$F_{1,2,10.7} = 4.58^*$
	40-45 Hz	$F_{1,2,10.8} = 6.23^*$	$F_{2,18} = 3.52$	$F_{1,2,10.5} = 1.95$	$F_{1,9} = 2.22$	$F_{1,9} = 0.93$	$F_{1,9} = 0.66$	$F_{1,2,10.8} = 6.18^*$	$F_{2,18} = 1.95$	$F_{1,2,10.5} = 1.55$
	45-50 Hz	$F_{2,18} = 4.79^*$	$F_{2,18} = 1.92$	$F_{2,18} = 3.69^*$	$F_{1,9} = 4.84^{\#}$	$F_{1,9} = 0.32$	$F_{1,9} = 4.84^{\#}$	$F_{2,18} = 4.31^*$	$F_{2,18} = 4.60^*$	$F_{2,18} = 4.48^*$
	50-55 Hz	$F_{1,2,10.6} = 2.72$	$F_{2,18} = 4.01^*$	$F_{1,1,10.3} = 6.87^*$	$F_{1,9} = 3.84$	$F_{1,9} = 9.70^*$	$F_{1,9} = 5.15^*$	$F_{1,2,10.6} = 4.05^{\#}$	$F_{2,18} = 3.83^*$	$F_{1,14,10.3} = 5.79^*$
	55-60 Hz	$F_{1,3,11.6} = 1.97$	$F_{2,18} = 2.37$	$F_{1,3,11.5} = 0.88$	$F_{1,9} = 2.31$	$F_{1,9} = 0.88$	$F_{1,9} = 4.82$	$F_{1,3,11.6} = 1.65$	$F_{2,18} = 1.84$	$F_{1,3,11.5} = 1.46$
Gamma medio	60-65 Hz	$F_{1,1,9.5} = 0.07$	$F_{1,9} = 0.04$	$F_{1,9} = 0.16$	$F_{1,9} = 2.12$	$F_{1,9} = 0.72$	$F_{1,1,9.5} = 0.02$	$F_{1,9} = 0.18$	$F_{1,9} = 0.03$	$F_{1,9} = 0.01$
	65-70 Hz	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{1,9} = 2.21$	$F_{1,9} = 1.31$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.01$
	70-75 Hz	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{1,9} = 0.79$	$F_{1,9} = 4.92^{\#}$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.01$
	75-80 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{1,9} = 1.46$	$F_{1,9} = 0.53$	$F_{1,9} = 0.12$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.02$
Gamma alto	80-85 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 16.78^{**}$	$F_{1,9} = 4.63^{\#}$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.64$	$F_{2,18} = 0.24$
	85-90 Hz	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{1,9} = 3.90$	$F_{1,9} = 3.38$	$F_{1,9} = 0.11$	$F_{2,18} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.28$	$F_{2,18} = 0.01$
	90-95 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.98$	$F_{1,9} = 0.10$	$F_{1,9} = 1.16$	$F_{1,9} = 3.11$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.25$
	95-100 Hz	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.11$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{1,9} = 2.51$	$F_{1,9} = 0.13$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$
	100-105 Hz	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.66$	$F_{1,9} = 0.03$	$F_{1,9} = 1.01$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.01$
	105-110 Hz	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.29$	$F_{1,9} = 1.99$	$F_{1,9} = 12.60^{**}$	$F_{1,9} = 9.60^*$	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.68$	$F_{2,18} = 0.67$
	110-115 Hz	$F_{2,18} = 0.31$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 1.13$	$F_{1,9} = 0.22$	$F_{1,9} = 4.25$	$F_{1,9} = 3.56$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.39$
	115-120 Hz	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{1,9} = 2.73$	$F_{1,9} = 10.73^*$	$F_{1,9} = 4.41^{\#}$	$F_{2,18} = 0.20$	$F_{2,18} = 0.69$	$F_{2,18} = 0.30$
HFO	120-125 Hz	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{2,18} = 0.07$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{1,9} = 1.95$	$F_{1,9} = 1.34$	$F_{1,9} = 1.95$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.31$
	125-130 Hz	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{2,18} = 0.79$	$F_{1,9} = 0.04$	$F_{1,9} = 11.02^{**}$	$F_{1,9} = 2.48$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.80$	$F_{2,18} = 0.27$
	130-135 Hz	$F_{2,18} = 0.27$	$F_{2,18} = 0.17$	$F_{2,18} = 0.34$	$F_{1,9} = 0.28$	$F_{1,9} = 17.29^{**}$	$F_{1,9} = 7.83^*$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 1.36$	$F_{2,18} = 0.38$
	135-140 Hz	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 1.01$	$F_{2,18} = 0.25$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 6.00^*$	$F_{1,9} = 3.56^{\#}$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.34$	$F_{2,18} = 0.18$
	140-145 Hz	$F_{2,18} = 0.32$	$F_{2,18} = 0.37$	$F_{2,18} = 0.57$	$F_{1,9} = 3.87$	$F_{1,9} = 4.85^{\#}$	$F_{1,9} = 5.14^*$	$F_{2,18} = 0.32$	$F_{2,18} = 0.48$	$F_{2,18} = 0.48$
	145-150 Hz	$F_{2,18} = 0.43$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.92$	$F_{1,9} = 1.00$	$F_{1,9} = 8.65^*$	$F_{1,9} = 7.99^*$	$F_{2,18} = 0.08$	$F_{2,18} = 0.82$	$F_{2,18} = 1.12$
	150-155 Hz	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.81$	$F_{2,18} = 0.66$	$F_{1,9} = 0.94$	$F_{1,9} = 4.03$	$F_{1,9} = 3.09$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.37$	$F_{2,18} = 0.22$
	155-160 Hz	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.50$	$F_{2,18} = 0.26$	$F_{1,9} = 0.64$	$F_{1,9} = 2.38$	$F_{1,9} = 0.58$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{2,18} = 0.04$

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Factores		Días			Grupo			Días*Grupo		
Frecuencias	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	0.1-1 Hz	1-2 Hz	2-3 Hz	
160-165 Hz	$F_{2,18} = 0.45$	$F_{2,18} = 0.60$	$F_{2,18} = 1.28$	$F_{1,9} = 0.07$	$F_{1,9} = 0.62$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.01$	
165-170 Hz	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{2,18} = 0.36$	$F_{2,18} = 0.95$	$F_{1,9} = 0.20$	$F_{1,9} = 1.55$	$F_{1,9} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.11$	$F_{2,18} = 0.01$	
170-175 Hz	$F_{2,18} = 0.19$	$F_{2,18} = 0.46$	$F_{2,18} = 0.88$	$F_{1,9} = 0.05$	$F_{1,9} = 1.77$	$F_{1,9} = 0.18$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.12$	$F_{2,18} = 0.01$	
175-180 Hz	$F_{2,18} = 0.10$	$F_{2,18} = 0.25$	$F_{2,18} = 0.15$	$F_{1,9} = 0.03$	$F_{1,9} = 0.50$	$F_{1,9} = 3.71$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.05$	$F_{2,18} = 0.21$	
180-185 Hz	$F_{2,18} = 0.09$	$F_{2,18} = 0.13$	$F_{2,18} = 0.23$	$F_{1,9} = 0.18$	$F_{1,9} = 0.41$	$F_{1,9} = 0.43$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.04$	
185-190 Hz	$F_{2,18} = 0.16$	$F_{2,18} = 0.21$	$F_{2,18} = 0.72$	$F_{1,9} = 0.51$	$F_{1,9} = 0.36$	$F_{1,9} = 1.90$	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.14$	
190-195 Hz	$F_{2,18} = 0.24$	$F_{2,18} = 0.04$	$F_{2,18} = 0.49$	$F_{1,9} = 0.17$	$F_{1,9} = 0.62$	$F_{1,9} = 1.31$	$F_{2,18} = 0.02$	$F_{2,18} = 0.06$	$F_{2,18} = 0.07$	
195,200 Hz	$F_{2,18} = 0.03$	$F_{2,18} = 0.22$	$F_{2,18} = 0.12$	$F_{1,9} = 0.01$	$F_{1,9} = 0.10$	$F_{1,9} = 0.14$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	$F_{2,18} = 0.01$	

Nota: # $p \leq 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Este trabajo ha sido financiado por: Conselleria d'Educació, Investigació, Cultura i Esport, (referencia: GV/2016/103); Universitat de València, Accions Especials d'investigació 2019, Programa Propi (referencia: UV-INV-AE19-1202428); Ministerio de Ciencia e Innovación-FEDER (referencia: PID2019-108562GB-I00); e Instituto de Salud Carlos III, Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación (FIS referencia PI16/00217 y P119/00170) cofinanciados por “*The European Regional Development Fund*” (*‘A way to build Europe’*).

Laboratori de Circuits Neuronals
Departamento de Anatomía y Embriología Humana
Universidad de Valencia