

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**



Casa abierta al tiempo

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

LICENCIATURA EN QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGICA

INFORME DE TÉRMINO DE SERVICIO SOCIAL:

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIDEPRESIVO DE LA
AMANTADINA EN UN MODELO DE LESIÓN TRAUMÁTICA DE LA
MÉDULA ESPINAL EN RATA”**

Realizado en:

**Laboratorio de nanotecnología y nanomedicina de la UAM
Xochimilco en colaboración con el Instituto Nacional de
Neurología y Neurocirugía “Manuel Velazco Suárez”,
Departamento de Neuroquímica
Del 11 de abril del 2022 al 12 de octubre del 2022**

Presenta:

**SILVA GARCIA LUIS RICARDO
MATRÍCULA: 2173025737**

Asesor interno

Dr. Alfonso Mata
Bermudez

No. económico 44188

Asesor externo

Med. Andrea Rangel Hernández
No. de cédula 123034

1. Introducción

La lesión traumática de médula espinal (LTME) se define como aquel padecimiento ocasionado por un daño traumático en el tejido nervioso localizado en el canal medular y tiene como consecuencia un déficit motor y/o sensorial que puede ser temporal o permanente (Verma et al., 2019). La incidencia anual de LTME oscila entre 10 a 80 pacientes por cada millón de habitantes y su prevalencia estimada es de 235 a 1800 pacientes por cada millón de habitantes (Hagen, 2015; Wyndaele et al., 2006). Entre las principales características clínicas de la LTME se encuentran: pérdida de la movilidad voluntaria (Hastings et al., 2012), disfunción autonómica, deficiencias respiratorias (Hagen, 2015), alteración de la sensibilidad caracterizada por la afectación en el reconocimiento de la termoalgesia, el tacto, la aparición de dolor (Hastings et al., 2012) y deterioro cognitivo a largo plazo que incluye pérdida de la memoria, déficit de atención y depresión (Wu et al., 2016). Debido a su impacto en la salud, el objetivo del presente proyecto de investigación es el estudio de los trastornos depresivos asociados al dolor crónico que se presenta como consecuencia de una LTME. En apoyo a lo anterior, se sabe que el dolor es uno de los problemas más comunes observados en personas que han sufrido una LTME y aproximadamente el 94% de los pacientes desarrollan algún tipo de dolor (Batista et al., 2019). El dolor se produce cuando un número de estímulos suficientes llegan a distintas áreas corticales del sistema nervioso central (SNC) a través de un sistema aferente normalmente inactivo, produciéndose una respuesta refleja, sensaciones desagradables y una respuesta emocional con varios componentes, entre los que se incluyen, el componente sensorial-discriminativo, donde hace referencia a cualidades estrictamente sensoriales del dolor, tales como su localización, calidad, intensidad y características temporo-espaciales; y el componente afectivo-emocional, por el que la sensación dolorosa se acompaña de ansiedad, depresión, temor y angustia. El dolor patológico es la consecuencia de un daño y/o disfunción, ya sea en el SNC o periférico (dolor neuropático) que se caracteriza por presentar respuestas de dolor espontáneo como hiperalgesia o alodinia. El dolor crónico en pacientes con LTME tiene un efecto reproducible sobre otros aspectos relacionados con el bienestar del individuo, como funcionamiento

general, aumento de la depresión y ansiedad, así como la calidad del sueño y actividades diarias (Solstrand et al., 2018). Además, reportes anteriores han demostrado que el dolor y la depresión comparten algunos mecanismos en diferentes estructuras supraespinales y este fenómeno se presenta en más del 50% de las personas que sufren de dolor neuropático compartiendo un alto grado de comorbilidad (Wu et al., 2018). Por lo anterior, surge la necesidad de plantear nuevas estrategias terapéuticas eficaces para tratar la depresión derivada de una LTME.

Se sabe que el uso de antagonistas de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) como el dextrometorfano y el compuesto MK-801, disminuyen las sensaciones dolorosas en distintos modelos de dolor neuropático, así mismo, la ketamina y la amantadina producen efectos antidepresivos en diversos modelos de depresión en animales. Por lo tanto, se plantea que el tratamiento con amantadina puede resultar efectivo para el tratamiento de la depresión en pacientes con algún tipo de lesión medular. A diferencia de otros antagonistas de NMDA, la amantadina está clínicamente disponible para su uso crónico puesto que su nivel de toxicidad es bajo (Pud et al., 1998). Con base en lo anterior, el presente estudio está enfocado en estudiar el posible efecto antidepresivo del tratamiento farmacológico con amantadina en un modelo de LTME en rata utilizando modelos experimentales adecuados para la evaluación de la depresión.

Entre estos protocolos se encuentra la prueba de nado forzado la cual fue desarrollada por Porsolt y sus colegas, convirtiéndose en el modelo más usado por su exactitud, especificidad y reproducibilidad (Porsolt R.D., et al. 1977). La prueba consiste en colocar a la rata en un recipiente de forma cilíndrica con agua en donde no pueda escapar y este obligado a nadar o flotar de manera constante. Lo que se evalúa en esta prueba es el tiempo de inmovilidad, pues una rata sin conductas depresivas debería de ser más persistente y tener más intentos de escape que los sujetos con depresión (Cryan J., et al. 2002). Por otra parte, la prueba de preferencia a sacarosa se desarrolló debido a que las ratas tienen un gusto peculiar por las azúcares y sus derivados especialmente por la sacarosa, esto se descubrió al realizar pruebas en donde se observó que las ratas “sham” preferían la solución con

sacarosa al 4% que la solución de “polycose” al 4%, concluyendo así que en condiciones normales las ratas tienen un mayor gusto por las soluciones con sacarosa (Ackroff, K., et al. 1993).

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto antidepresivo del tratamiento con amantadina en un modelo de lesión traumática de la médula espinal en rata.

2.2. Objetivos específicos

1. Observar en qué grupos de ratas existen conductas depresivas con la prueba de nado forzado.
2. Comparar el efecto entre amantadina, fluoxetina y gabapentina sobre los sujetos de prueba en las diferentes pruebas conductuales.

3. Metodología

3.1. Animales

Las pruebas fueron realizadas en ratas hembra de la cepa Wistar con un peso aproximado de 200 a 250 g con acceso libre a agua y alimentos. Los animales fueron proporcionados por la Unidad de Producción Animal del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” (Protocolo No. 68/19, aprobado por los miembros del comité institucional para el cuidado y uso de los animales de laboratorio). Todos los experimentos se llevaron a cabo siguiendo los Lineamientos y Estándares para la Investigación del Dolor Experimental en Animales (Zimmermann, 1983) y por la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 que regula los procedimientos para el correcto manejo, cuidado y uso de animales de laboratorio.

3.2 Diseño experimental

Para el desarrollo de este proyecto de investigación, se utilizó el modelo animal de LTME por contusión estandarizado por Basso et al., (1996) que consiste en dejar caer un cilindro metálico de 10 g de peso a una altura de 6.25 mm directamente sobre la medula espinal a la altura de la vértebra torácica T12, para producir una lesión traumática y que en consecuencia se generen alteraciones en las conductas nociceptivas según lo reportado por Mata-Bermúdez y colaboradores en el 2021. Los animales se distribuyeron en los siguientes 6 grupos experimentales (n=6): 1) Ratas sin procedimiento quirúrgico (Naive); 2) Ratas a las cuales solo se les realizó una laminectomía en la vertebra torácica T12 (Sham); 3) Ratas lesionadas a las cuales solo se les administro en vehículo (SSF al 0.9%, i.p.); 4) Ratas lesionadas tratadas con amantadina (50 mg/Kg, i.p.); de acuerdo con lo reportado por Snijdelaar et al., (2005); 5) Ratas lesionadas tratadas con gabapentina (30 mg/kg, i.p.) (Shi et al., 2018) y 6) Ratas lesionadas tratadas con Fluoxetina (10 mg/Kg, i.p.) (Vega et al., 2015). Cabe señalar que la administración de los distintos tratamientos se realizó a los 2 días posteriores de la LTME y 10 minutos antes de la evaluación de pruebas conductuales.

3.3 Procedimiento quirúrgico

Modelo de lesión traumática de la medula espinal en rata

Todos los animales, con excepción del grupo Naive, se les practicó un procedimiento quirúrgico bajo anestesia con pentobarbital (50 mg/kg i.p.) y en condiciones asépticas, se realizó una incisión extendida seguida de la laminectomía, desde la región torácica media baja, incluida la porción caudal T10 hasta T12, para exponer la medula espinal con la duramadre íntegra, los animales Sham fueron suturados y los lesionados se colocaron en el dispositivo NY Impactor para producir una LTME controlada por contusión, se dejó caer un cilindro metálico de 10 g de peso de una altura de 6.25 mm, posteriormente se suturaron las heridas con nylon 3-0. Los animales fueron alojados en cajas individuales de acrílico para su recuperación. Todas las ratas recibieron tratamiento de bencilpenicilina benzatina 1.200.000 U.I. (dosis de 100ml/kg una sola dosis) y paracetamol en el

agua de bebida (Tempra jarabe infantil) 10 ml en 2 litros de agua durante 7 días (Diaz-Ruiz et al., 2011).

3.4 Tratamiento farmacológico

El clorhidrato de amantadina, el clorhidrato de fluoxetina y la gabapentina fueron obtenidas de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). Todos los fármacos fueron disueltos para su administración en solución salina fisiológica al 0.9 %.

3.5. Pruebas conductuales

3.5.1. Nado forzado

Se realizó en un horario de 8 am a 13 pm aproximadamente, respetando el ciclo luz-oscuridad de la rata. Se colocó un cilindro de acrílico de 20 centímetros de diámetro y 50 centímetros de altura, se llenó con 30 centímetros de agua corriente a una temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ la cual fue previamente calentada con una resistencia y se corroboró la temperatura con un termómetro sencillo de mercurio. Una vez calentada el agua del cilindro, se introdujo la rata y, sin previa adaptación, se grabó su comportamiento durante 10 minutos. Se evaluó el tiempo de inmovilidad, que se considera como la ausencia de cualquier movimiento realizado por la rata, excepto el necesario para mantener la cabeza fuera del agua. Al finalizar la grabación, se secó a la rata con una toalla de tela y se devolvió a su caja de acrílico.

3.5.2 Preferencia a sacarosa

Se realizó en un horario de 8 am a 10 am aproximadamente, respetando el ciclo luz-oscuridad de la rata; colocando una rata por caja individual y se llenaron dos bebederos, uno con 150 mL de agua corriente a temperatura ambiente y el otro con 150 mL de la solución de sacarosa al 2%, fueron colocados en ambos extremos de la caja durante dos horas. Para evitar un sesgo de posición, los bebederos fueron intercambiados de lugar al paso de 1 hora. Al finalizar la prueba, se retiraron los bebederos y se cuantificó la cantidad de agua ingerida, así como la de solución con

sacarosa. La preferencia de sacarosa se evaluó posteriormente con la siguiente fórmula:

$$\text{preferencia de sacarosa} = \frac{\text{peso solución sacarosa consumida (g)}}{\text{peso solución sacarosa consumida (g)} + \text{peso agua consumida (g)}} \times 100$$

Una reducción en el consumo de agua azucarada demuestra anhedonia, la cual es una conducta asociada a la depresión.

4. Actividades realizadas

De acuerdo con nuestro calendario de actividades, asistí de lunes a viernes para realizar mis actividades correspondientes a cada día de la semana.

Los lunes, miércoles y viernes se me asignó cambiar la cama y alimentar a los animales para las pruebas.

Se me capacitó para realizar en todas las actividades llevadas a cabo en los experimentos durante mi estancia. Al inicio de las pruebas administré por vía intraperitoneal los fármacos (amantadina, fluoxetina y gabapentina) correspondientes a cada sujeto de prueba siguiendo protocolos de manejo animal. En la realización de los experimentos se me asignó la preparación previa de estos y su ejecución de acuerdo con los protocolos establecidos. En las pruebas de “nado forzado” y “preferencia de sacarosa” preparé los materiales y me aseguré, en conjunto con mis compañeros de laboratorio, del cumplimiento de las condiciones requeridas de acuerdo con los protocolos de mis asesores, registrando todo el proceso y resultados en la bitácora del laboratorio.

5. Objetivos y metas alcanzados

Se logró evaluar las conductas depresivas en las ratas mediante las pruebas de nado forzado y preferencia de sacarosa.

Se observó que, después de la semana 3, los sujetos con LTME comenzaron a presentar conductas depresivas, mientras que los grupos de fluoxetina, gabapentina, Sham y Naive no presentaron conductas depresivas. En el caso de amantadina los resultados son demasiado variados para dar una interpretación correcta.

Sí existió diferencia en cuanto al efecto antidepresivo entre amantadina, fluoxetina y gabapentina.

6. Resultados

6.1 Preferencia de sacarosa

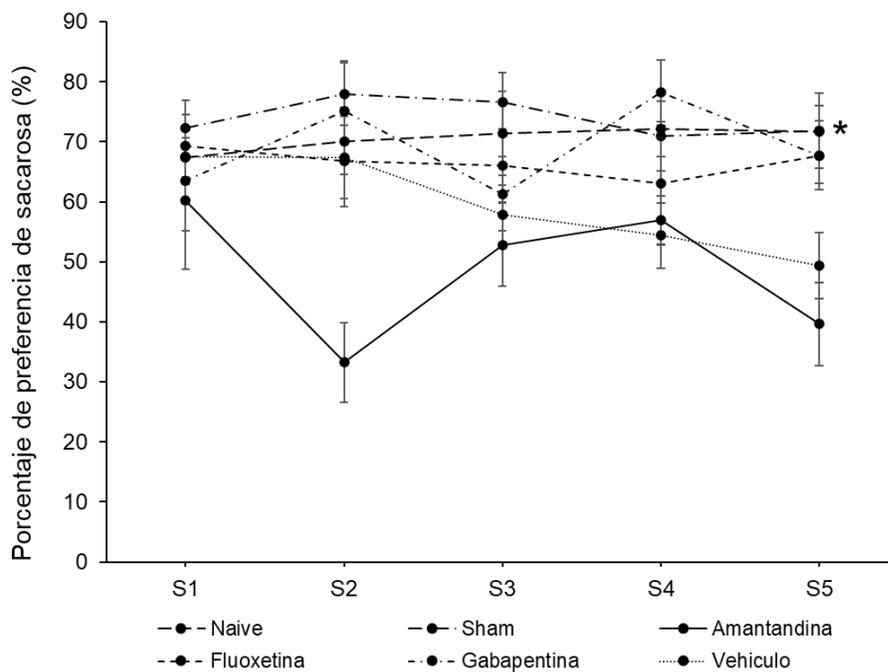


Figura 1. Curso temporal del Porcentaje de preferencia de sacarosa en ratas con LTME. Los resultados de la prueba de preferencia de sacarosa en un modelo conductual de depresión después de una LTME en ratas se muestran en la Figura 1. Se muestran los resultados de la evaluación del porcentaje de preferencia de sacarosa a través del tiempo (5 semanas) por grupo. Cada uno de los grupos contaba con un total de 6 animales. El grupo sin LTME (Naive) mostró los valores de una rata sana sin comportamiento depresivo, así como las ratas a las cuales sólo se les realizó laminectomía (Sham), no presentan comportamiento depresivo

asociado a dolor neuropático. Los animales lesionados tratados con amantadina muestran una disminución en el porcentaje de preferencia de sacarosa en la semana 2, siendo éste su punto más bajo, con un posterior aumento en las semanas 3 y 4 y finalmente un descenso en la semana 5. El grupo de animales lesionados tratados con vehículo muestra un descenso continuo en el porcentaje de preferencia de sacarosa a lo largo del tiempo, siendo su punto más bajo en la última semana, pero sin llegar a ser tan bajo como el grupo tratado con amantadina. Por otro lado, los resultados obtenidos mostraron una diferencia estadísticamente significativa para el grupo tratado con amantadina ($p < 0,05$) en comparación con el grupo vehículo.

Se puede observar el porcentaje de preferencia de sacarosa respecto a cada semana en donde las ratas vehículo y amantadina demostraron una muy baja preferencia a sacarosa, por lo que podemos asumir que presentan anhedonia y la administración de amantadina no cumplió su propósito.

6.2 Nado forzado

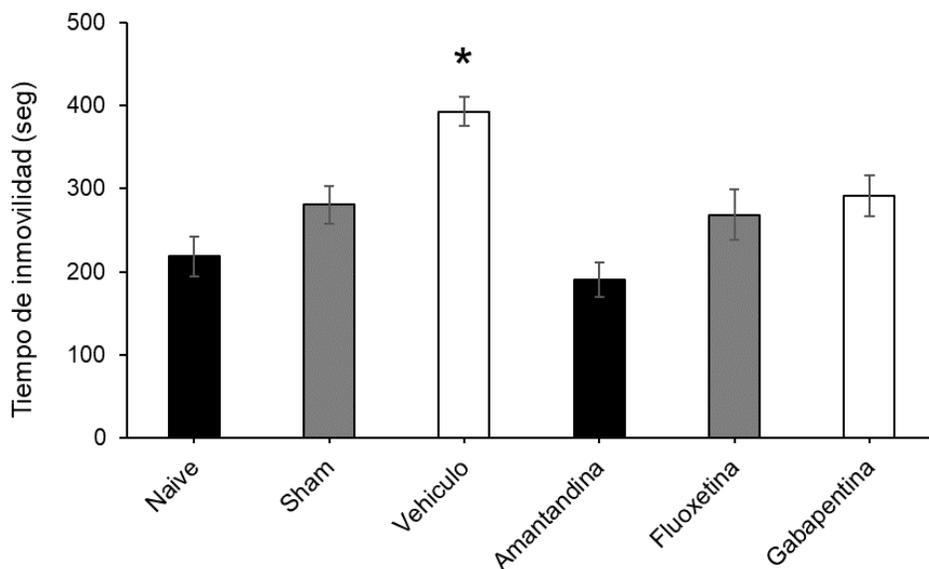


Figura 2. Prueba de nado forzado por grupo. Los resultados de la prueba de nado forzado en un modelo conductual de depresión después de una LTME en ratas, cuyos valores se expresan en tiempo de inmovilidad en segundos, se muestran en la figura 2. El grupo Naive muestra el resultado de una rata sana sin comportamiento depresivo asociado a LTME, con una media \pm SEM de 218.23 s; las ratas Sham,

por otro lado, muestran el comportamiento de una rata a la que únicamente se le realizó laminectomía, sin comportamiento depresivo asociado a dolor neuropático, presentando una media \pm SEM de 280.33 s. El grupo de animales tratados con vehículo mostraron el mayor tiempo de inmovilidad con una media \pm SEM de 392.5 s. El grupo de LTME tratados con Amantadina mostraron un tiempo de inmovilidad incluso menor a las ratas Naive, con una media \pm SEM de 190.4 s. Por otra parte, el grupo tratado con Fluoxetina tuvo un tiempo de inmovilidad similar al de las ratas Sham con una media \pm SEM de 268.28 s. Finalmente, el grupo de ratas lesionadas tratadas con Gabapentina presentan un tiempo de inmovilidad con una media \pm SEM de 291.28 s. Todos los grupos mostraron tiempos de inmovilidad menores comparados con el grupo vehículo, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos de la prueba de nado forzado podemos observar que la amantadina mostró un efecto esperado reduciendo el tiempo de inmovilidad en comparación con las ratas vehículo, incluso demostrando un mayor efecto antidepresivo en comparación con fluoxetina y gabapentina.

Conclusiones

La diferencia de los resultados obtenidos de preferencia de sacarosa respecto con los resultados de nado forzado, posiblemente se pueda deber a que la prueba de preferencia de sacarosa es una prueba altamente sensible a factores ambientales, por lo que se necesitaría realizar nuevamente en condiciones más controladas para evitar distractores. Tomando en cuenta esto podríamos tomar los resultados de nado forzado como los más válidos y concluir que la amantadina sí fue efectiva para el tratamiento de la depresión causada por la lesión en medula espinal.

Recomendaciones

De ser posible se debe repetir la prueba de preferencia a sacarosa para observar si hubo errores o variantes que afectarán en la prueba pues se contradicen los resultados obtenidos con nado forzado.

8. Referencias

- Ackroff, K., Manza, L., & Sclafani, A. (1993). The Rat's Preference for Sucrose, Polycose and their Mixtures. *Appetite*, 21(1), 69–80. doi:10.1006/appe.1993.1037
- Ahuja, C. S., Nori, S., Tetreault, L., Wilson, J., Kwon, B., Harrop, J., Choi, D., & Fehlings, M. G. (2017). Traumatic Spinal Cord Injury-Repair and Regeneration. *Neurosurgery*, 80(3S), S9–S22.
- Batista, C. M., Mariano, E. D., Onuchic, F., Dale, C. S., Dos Santos, G. B., Cristante, A. F., Otoch, J. P., Teixeira, M. J., Morgalla, M., & Lepski, G. (2019). Characterization of traumatic spinal cord injury model in relation to neuropathic pain in the rat. *Somatosensory & motor research*, 36(1), 14–23.
- Chen, S. R., Samoriski, G., & Pan, H. L. (2009). Antinociceptive effects of chronic administration of uncompetitive NMDA receptor antagonists in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Neuropharmacology*, 57(2), 121–126.
- Choudary, P. V., Molnar, M., Evans, S. J., Tomita, H., Li, J. Z., Vawter, M. P., Myers, R. M., Bunney, W. E., Jr, Akil, H., Watson, S. J., & Jones, E. G. (2005). Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(43), 15653–15658.
- Craig, A., Tran, Y., & Middleton, J. (2009). Psychological morbidity and spinal cord injury: a systematic review. *Spinal cord*, 47(2), 108–114.
- Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci*. 2002 May;23(5):238-45. doi: 10.1016/s0165-6147(02)02017-5. PMID: 12008002.
- Dean., Jason., Keshavan., & Matcheri. (2016). The Neurobiology of Depression: an Integrated View. *Asian Journal of Psychiatry*
- Díaz-Villa BA. & González-González C. (2012). Actualidades en neurobiología de la depresión. *Rev Latinoam Psiquiatría*, 11(3):106-115.
- Dunlop, B. W., & Nemeroff, C. B. (2007). The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Archives of general psychiatry*, 64(3), 327–337.

- Descalzi, G., Mitsi, V., Purushothaman, I., Gaspari, S., Avrampou, K., Loh, Y. E., Shen, L., & Zachariou, V. (2017). Neuropathic pain promotes adaptive changes in gene expression in brain networks involved in stress and depression. *Science signaling*, *10*(471), eaaj1549.
- Eli, I., Lerner, D. P., & Ghogawala, Z. (2021). Acute Traumatic Spinal Cord Injury. *Neurologic Clinics*, *39*(2), 471–488.
- Galeiras Vázquez, R., Ferreiro Velasco, M. E., Mourelo Fariña, M., Montoto Marqués, A., & Salvador de la Barrera, S. (2017). Update on traumatic acute spinal cord injury. Part 1. Actualización en lesión medular aguda postraumática. Parte 1. *Medicina intensiva*, *41*(4), 237–247.
- Gao, Y. J., & Ji, R. R. (2010). Targeting astrocyte signaling for chronic pain. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, *7*(4), 482–493.
- Hagen E. M. (2015). Acute complications of spinal cord injuries. *World journal of orthopedics*, *6*(1), 17–23.
- Hastings, J. D., Harvey, L. A., Bruce, J. A., & Somers, M. F. (2012). Compensation allows recovery of functional independence in people with severe motor impairments following spinal cord injury. *Journal of rehabilitation medicine*, *44*(5), 477–478.}
- Hearn, J. H., & Cross, A. (2020). Mindfulness for pain, depression, anxiety, and quality of life in people with spinal cord injury: a systematic review. *BMC Neurology*, *20*(1).
- Kim, H., Chen, L., Lim, G., Sung, B., Wang, S., McCabe, M. F., Rusanescu, G., Yang, L., Tian, Y., & Mao, J. (2012). Brain indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the comorbidity of pain and depression. *The Journal of clinical investigation*, *122*(8), 2940–2954.
- Küker W, Schmidt F, Heckl S, Nägele T, Herrlinger U. Bilateral wallerian degeneration of the middle cerebellar peduncles due to paramedian pontine infarction: MRI findings. *Neuroradiology* 2004; *46*: 896-9.

- Leite-Almeida, H., Pinto-Ribeiro, F., & Almeida, A. (2015). Animal Models for the Study of Comorbid Pain and Psychiatric Disorders. *Modern trends in pharmacopsychiatry*, 30, 1–21.
- Levendoglu, F., Ogün, C. O., Ozerbil, O., Ogün, T. C., & Ugurlu, H. (2004). Gabapentin is a first line drug for the treatment of neuropathic pain in spinal cord injury. *Spine*, 29(7), 743–751.
- Lim, S. W., Shiue, Y. L., Ho, C. H., Yu, S. C., Kao, P. H., Wang, J. J., & Kuo, J. R. (2017). Anxiety and Depression in Patients with Traumatic Spinal Cord Injury: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *PloS one*, 12(1), e0169623.
- Li, Y., Cao, T., Ritzel, R. M., He, J., Faden, A. I., & Wu, J. (2020). Dementia, Depression, and Associated Brain Inflammatory Mechanisms after Spinal Cord Injury. *Cells*, 9(6), 1420.
- Liu, M.-Y., Yin, C.-Y., Zhu, L.-J., Zhu, X.-H., Xu, C., Luo, C.-X., ... Zhou, Q.-G. (2018). Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature Protocols*, 13(7), 1686–1698. doi:10.1038/s41596-018-0011-z
- Michaelides, A., & Zis, P. (2019). Depression, anxiety and acute pain: links and management challenges. *Postgraduate Medicine*.
- Mulroy, S. J., Hatchett, P. E., Eberly, V. J., Haubert, L. L., Conners, S., Gronley, J., Garshick, E., & Requejo, P. S. (2016). Objective and Self-Reported Physical Activity Measures and Their Association With Depression and Satisfaction With Life in Persons With Spinal Cord Injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 97(10), 1714–1720.
- Murrough, J. W., Abdallah, C. G., & Mathew, S. J. (2017). Targeting glutamate signalling in depression: progress and prospects. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(7), 472–486.
- Nickels, J. L., Schneider, W. N., Dombovy, M. L., & Wong, T. M. (1994). Clinical use of amantadine in brain injury rehabilitation. *Brain injury*, 8(8), 709–718.

- Northoff, G., & Sibille, E. (2014). Why are cortical GABA neurons relevant to internal focus in depression? A cross-level model linking cellular, biochemical and neural network findings. *Molecular psychiatry*, 19(9), 966–977.
- Nozari, M., Nahavandi, A., Zeinivand, M., Eslami Gharaati, M., Godarzi, M., Ahmadi, M., & Jamali-Raeufy, N. (2020). Ibuprofen Protection Against Restrained Chronic Stress-induced Depression in Male Rats. *Basic and clinical neuroscience*, 11(4), 413–422.
- Overstreet, D. H. (2011). Modeling Depression in Animal Models. *Psychiatric Disorders*, 125–144. doi:10.1007/978-1-61779-458-2_7.
- Pérez-Padilla, Elsy Arlene, Cervantes-Ramírez, Víctor Manuel, Hijuelos-García, Nayeli Alejandra, Pineda-Cortés, Juan Carlos, & Salgado-Burgos, Humberto. (2017). Prevalencia, causas y tratamiento de la depresión Mayor. *Revista biomédica*, 28(2), 73-98.
- Pirttimaki, T. M., Hall, S. D., & Parri, H. R. (2011). Sustained neuronal activity generated by glial plasticity. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(21), 7637–7647.
- Porsolt, R.D. et al. (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732
- Pud, D., Eisenberg, E., Spitzer, A., Adler, R., Fried, G., & Yarnitsky, D. (1998). The NMDA receptor antagonist amantadine reduces surgical neuropathic pain in cancer patients: a double blind, randomized, placebo controlled trial. *Pain*, 75(2-3), 349–354.
- Raupp-Barcaro, I. F., Vital, M. A., Galduróz, J. C., & Andreatini, R. (2018). Potential antidepressant effect of amantadine: a review of preclinical studies and clinical trials. *Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil : 1999)*, 40(4), 449–458.
- Sharma, H. (2005). Pathophysiology of Blood-Spinal Cord Barrier in Traumatic Injury and Repair. *Current Pharmaceutical Design*, 11(11), 1353–1389
- Slattery, D. A., & Cryan, J. F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature protocols*, 7(6), 1009–1014.

- Snijdelaar, D. G., van Rijn, C. M., Vinken, P., & Meert, T. F. (2005). Effects of pre-treatment with amantadine on morphine induced antinociception during second phase formalin responses in rats. *Pain*, *119*(1-3), 159–167.
- Solstrand Dahlberg, L., Becerra, L., Borsook, D., & Linnman, C. (2018). Brain changes after spinal cord injury, a quantitative meta-analysis and review. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *90*, 272–293.
- Szeitz, A., & Bandiera, S. M. (2018). Analysis and measurement of serotonin. *Biomedical chromatography: BMC*, *32*(1), 10.1002/bmc.4135.
- Vega-Rivera, N. M., Fernández-Guasti, A., Ramírez-Rodríguez, G., & Estrada-Camarena, E. (2015). Effect of sub-optimal doses of fluoxetine plus estradiol on antidepressant-like behavior and hippocampal neurogenesis in ovariectomized rats. *Psychoneuroendocrinology*, *57*, 113–124. doi:10.1016/j.psyneuen.2015.03.022
- Verma, R., Viridi, J. K., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2019). Animals models of spinal cord contusion injury. *The Korean journal of pain*, *32*(1), 12–21.
- Williams, R., & Murray, A. (2015). Prevalence of depression after spinal cord injury: a meta-analysis. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, *96*(1), 133–140.
- Wu, J., Zhao, Z., Kumar, A., Lipinski, M. M., Loane, D. J., Stoica, B. A., & Faden, A. I. (2016). Endoplasmic Reticulum Stress and Disrupted Neurogenesis in the Brain Are Associated with Cognitive Impairment and Depressive-Like Behavior after Spinal Cord Injury. *Journal of neurotrauma*, *33*(21), 1919–1935.
- Wu, X. B., Jing, P. B., Zhang, Z. J., Cao, D. L., Gao, M. H., Jiang, B. C., & Gao, Y. J. (2018). Chemokine receptor CCR2 contributes to neuropathic pain and the associated depression via increasing NR2B-mediated currents in both D1 and D2 dopamine receptor-containing medium spiny neurons in the nucleus accumbens shell. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *43*(11), 2320–2330.

- Wyndaele, M., & Wyndaele, J. J. (2006). Incidence, prevalence and epidemiology of spinal cord injury: what learns a worldwide literature survey?. *Spinal cord*, 44(9), 523–529.
- Zhang, G. F., Wang, J., Han, J. F., Guo, J., Xie, Z. M., Pan, W., Yang, J. J., & Sun, K. J. (2016). Acute single dose of ketamine relieves mechanical allodynia and consequent depression-like behaviors in a rat model. *Neuroscience letters*, 631, 7–12.
- Zhang, Y., Al Mamun, A., Yuan, Y., Lu, Q., Xiong, J., Yang, S. & Wang, J. (2021). Acute spinal cord injury: Pathophysiology and pharmacological intervention (Review). *Molecular Medicine Reports*.