



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO NEONATAL CON
CLOMIPRAMINA SOBRE LA MEMORIA
ESPACIAL EN RELACIÓN CON LA EXPRESIÓN
DE BDNF, LOS RECEPTORES 5HT1A Y 5HT2A**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

PRESENTA:

KENIA MORALES QUINTERO



CD. MX.

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI

VOCAL: Profesor: IGNACIO CAMACHO ARROYO

SECRETARIO: Profesor: MARCO ANTONIO CERBON CERVANTES

1er. SUPLENTE: Profesor: IGNACIO GONZÁLEZ SANCHEZ

2° SUPLENTE: Profesor: FRANCISCA MORAYNA GUTIERREZ LUNA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: En la Unidad de Investigación en Reproducción humana. Instituto Nacional de Perinatología-Facultad de Química, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Marco Antonio Cerbón Cervantes

ASESOR TÉCNICO:

Dra. Ofelia Limón Morales

SUSTENTANTE:

Kenia Morales Quintero

Vida tangible que se escapa como agua entre los dedos, dejando como consuelo solo un recuerdo en la memoria, que define nuestras decisiones a través de recuerdos, que nos encadenan o hacen libres, característica singular en el ser humano, que ha sido la acumulación de nuestros ancestros, que nos hace únicos e irrepetibles, con semejanzas y patrones aprendidos desde nuestros primeros años de vida, donde al florecer de ésta aparece una curiosidad desbordada, mostrando la máxima naturaleza de un ser humano sin sociedad, sin embargo con el tiempo su fuego se extingue por el amaestramiento que silencia la expresión de su ser. La memoria, maldita o buena (adjetivos no válidos en la ciencia, donde las cosas están en función de algo, que va de lo general a lo particular), un proceso sorprendente, aunque el ser humano no toma conciencia de ello, pues está muy ocupado en el exterior.

Desde que el ser humano tiene conciencia desde sus primeros años de vida va perdiendo la admiración por vivir, la inquietud de aprender cosas nuevas o simplemente de expresar sus ideas y sentimientos, perdiendo así la concentración en sí mismo y en el ahora, para después convertirse en los deseos de todos, debido al temor a ser juzgados como locos, para condenarse así a envejecer y morir mentalmente.

Es cierto que cada uno somos la expresión de nuestras vivencias, producto de la acumulación de experiencias nuestras o ajenas, dependiendo si se vive consciente de ello, sin embargo, la memoria no define realmente quienes somos, pues esos son deseos, pensamientos, ideas, aunque sí es definido por nuestras acciones y el control de las mismas.

El ser humano pierde su naturaleza para ser moldeado por la sociedad, como mencionaría en su momento Friedrich Nietzsche: “humano, demasiado humano”. Para ser hay que hacer, sin duda el ser que no se transforma está destinado a morir en una monótona rutina.

A mis amigos con los que convivo en los jardines de la memoria.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres por haberme permitido estudiar, por medio de su cariño y esfuerzo de todos los días, gracias por permitirme asistir a la universidad, donde conocí el valor de la toma de decisiones y el aprendizaje que me trajo cada una de sus consecuencias, estas sólo se toman o se dejan, el tiempo no vuelve y sólo se aprende mediante la experiencia.

Gracias a los maestros que me apoyaron, aunque algunos ya no estén aquí: Natividad Cárdenas Juárez y Alejandro Rojas, son un grato recuerdo de enseñanza; a los amigos que fueron víctimas de depresión, lo que cambió mi percepción sobre la vida, a mis compañeros, a los amigos que me enseñaron a trabajar en equipo a pesar de las dificultades. A ti Marco Antonio, a quién admiro demasiado, hermano me has dado valor para seguir.

Y sin más que decir gracias a los seres que se han presentado para dejarme una lección de vida, a quien les di mi confianza y me mostraron qué pasa cuando uno olvida y dónde sólo hay dos alternativas o lo usas como un martillo para moldear una piedra o para usarlo como un arma de destrucción.

.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Doctor y SNI III: Marco Antonio Cerbón, por la confianza otorgada y por brindarme la gran oportunidad de realizar mi tesis en su equipo de trabajo y laboratorio de la Facultad de Química, gran investigador dedicado de tiempo completo a la ciencia: “Un gran amigo y mentor”, siempre le llevaré en mi memoria con gran respeto y admiración.

También agradezco a la investigadora Pos-Doctorante de DGAPA-UNAM, Dra. Ofelia Limón Morales, completamente dedicada a la investigación y comprometida con sus alumnos, y quien me mostrara la increíble galaxia que es el cerebro con sus planetas neuronales y satélites: “los neurotransmisores”.

A ti Alejandra Cabrera por haberme ayudado a entender el valor de la perseverancia y de la continua mejora.

Por último, gracias a CONACYT por haberme apoyado como ayudante de investigador SNI III, durante mi estancia en el Unidad de Investigación en Reproducción Humana Instituto Nacional de Perinatología- Facultad de Química UNAM-.

INDÍCE

1.	RESUMEN	8
2.	INTRODUCCIÓN	10
3.	MARCO TEÓRICO	12
3.1	Depresión mayor	12
3.1.2	Hipótesis monoaminérgica	13
3.1.3	Hipótesis neurotrófica	14
3.2	Sistema serotoninérgico	14
3.2.1	Receptor 5HT1A	18
3.2.2	Receptor 5HT2A	20
3.3	La 5HT y el neurodesarrollo	22
3.4	Aspectos neuroanatómicos	23
3.4.1	Hipocampo y Depresión	23
3.4.2	Hipocampo y memoria	24
3.5	BDNF	24
4.	ANTECEDENTES	25
4.1	Modelo de depresión inducida neonatalmente por clomipramina (CMI)	25
4.2	Participación de los receptores 5HT1A, 5HT2A y BDNF en el desarrollo y la memoria	28
4.2.1	Receptores 5HT1A ,5HT2A y su relación con la memoria	28
4.2.2	BDNF y memoria	29
5.	JUSTIFICACIÓN	31
6.	HIPÓTESIS	31

7.	OBJETIVO GENERAL	32
7.1	Objetivos particulares	32
8.	METODOLOGÍA	32
8.1	Modelo animal de depresión neonatalmente inducido por CMI	32
8.2	Prueba del laberinto acuático de Morris	33
8.3	Análisis de la expresión de los receptores 5HT1A, 5HT2A y BDNF	34
8.3.1	Obtención de las muestras	35
8.3.2	Obtención y cuantificación del ARN total.	35
8.3.3	Síntesis de ADN complementario (Transcriptasa reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR))	35
8.3.4	Análisis de la expresión de 5HT1A, 5HT2A y para BDNF por PCR cuantitativo (qPCR)	36
8.3.5	Análisis estadístico	37
9.	RESULTADOS	38
9.1	Evaluación del efecto del tratamiento con CMI en la prueba de laberinto acuático de Morris (LAM)	38
9.1.2	Evaluación de la expresión de BDNF y los receptores 5HT1A y 5HT2A en hipocampo de ratas tratadas con CMI	43
10.	DISCUSIÓN	47
10.1.1	Depresión y memoria espacial	47
10.1.2	Receptores 5HT1A, 5HT2A en relación con la depresión y la memoria espacial	49
10.1.3	BDNF	51

11.	CONCLUSIONES	53
12.	REFERENCIAS	54

1. RESUMEN

Los antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) son comúnmente usados para controlar los síntomas de la depresión, antes, durante y después del embarazo o en mujeres lactantes que no responden a terapias psicológicas, debido a que estos fármacos incrementan la concentración y tiempo de permanencia de la serotonina (5HT) en el espacio sináptico, provocando mejoras en el estado anímico. Existen antecedentes que demuestran los efectos de la administración de los ISRS en etapas críticas del neurodesarrollo y su relación con trastornos conductuales a largo plazo, tal es el caso de la clomipramina (CMI), la cual al administrarse en los días 8-21 posnatales, provoca cambios en la neuroquímica y conducta, reflejada en esta última como signos de depresión en el modelo animal: anhedonia, alteraciones en el sueño, disminución en la conducta sexual, etc. La 5HT y algunos de sus receptores, de los cuales estudiaremos los de tipo 1A y 2A (5HT1A y 5HT2A), que están implicados en procesos como el aprendizaje y la memoria, además de que la 5HT participa en el neurodesarrollo, ya que actúa como un factor neurotrófico durante la segunda y tercera semanas de vida de la rata. Por otro lado, el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés), es una neurotrofina que participa en la modulación de la plasticidad sináptica y arborización de espinas apicales en el hipocampo, por lo cual se le relaciona con una mejora en el aprendizaje y consolidación de la memoria. Se ha descrito que el uso de ISRS modifica la organogénesis en las primeras semanas del embarazo, pero poco se sabe de sus efectos en neonatos lactantes a largo plazo.

El objetivo de este estudio fue analizar la expresión BDNF, así como la de los receptores 5HT1A y 5HT2A hipocampales, en relación con alteraciones en memoria espacial tras la administración de CMI empleando un modelo en animales en etapa neonatal, en la que el sistema serotoninérgico no ha terminado de madurar y en la cual 5HT actúa como una neurotrofina. Para esto se usaron ratas machos que se administraron en los días 8-21 posnatales: control (solución salina) y un grupo tratado (15 mg/kg de clorhidrato de CMI en un volumen de 0.1 ml), esto dos veces al día.

A los tres meses de edad (correspondientes a la etapa adulta en la rata Wistar), se realizó una prueba de memoria espacial dependiente de hipocampo: el laberinto acuático de Morris (LAM), que consistió en 6 días de entrenamiento y uno de prueba de retención de memoria. Posteriormente se practicó eutanasia para extraer el hipocampo y obtener el ARNm total, después se sintetizó ADN complementario (ADNc) y se realizó la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) para determinar la expresión del factor neurotrófico BDNF, así como de los receptores 5HT1A y 5HT2A.

Los resultados revelan que el tratamiento con CMI provoca un incremento en la distancia recorrida en la latencia de escape en la prueba del LAM, así también disminuye su desempeño en la prueba de retención. Además, produce una disminución de la expresión del receptor 5HT2A y BDNF en el hipocampo, por el contrario, para el receptor 5HT1A se encontró un aumento en su expresión. Estos datos sugieren que la administración de ISRS en una etapa temprana del desarrollo de las ratas Wistar, provocan el deterioro de su memoria en la edad adulta y alteran la expresión de diferentes receptores en el sistema nervioso.

2. INTRODUCCIÓN

Se denomina depresión mayor (DM) al estado de ánimo caracterizado por episodios en los que las emociones y pensamientos negativos coexisten con diferentes síntomas. De acuerdo con el Manual de Diagnóstico y Estadística de los Trastornos Mentales (DSM-IV), la depresión se caracteriza por sentimientos de tristeza y anhedonia (ausencia de interés por obtener placer), alteraciones en el apetito, disminución de la libido, alteraciones del sueño, desesperanza, inutilidad, culpa, baja autoestima, pensamientos de suicidio, además de un déficit cognitivo que afecta tanto la atención selectiva como a la memoria episódica y de trabajo, presentando una menor capacidad de pensamientos reflexivos. El diagnóstico se establece cuando al menos cinco de los anteriores síntomas coexisten y persisten por lo menos durante dos semanas.

Se calcula que afecta a más de 300 millones de personas (OMS, 2017) y según la Organización Mundial de Salud (OMS) se estima que para el año 2020 será la segunda causa de discapacidad en la población mundial y seguirá siendo la primera en los países industrializados (Hyman, 2008; Murray, 1996; OMS, 2017). Puede convertirse en un problema de salud serio, especialmente cuando es de larga duración e intensidad moderada a grave, pues ocasiona discapacidad en el contexto ocupacional, educativo, social y en el peor de los casos puede llevar al suicidio. Cada año hay cerca de 800 000 decesos por esta causa, constituyendo la segunda causa de muerte en el grupo etario de 15 a 29 años (OMS, 2017).

A nivel mundial se sabe que la prevalencia de este padecimiento es mayor en la mujer que en el hombre, en una proporción de 2:1 y en la población mexicana es de 5.8% en mujeres y 2.5 % en hombres (Belló et al, 2005; Benjet *et al.*, 2004). Particularmente, se presenta mayormente en mujeres en etapa reproductiva, dentro de esta etapa, el período perinatal es donde existe mayor incidencia, pues entre el 15 y 20 % de las mujeres experimentan trastornos del estado de ánimo (por ejemplo, depresión) durante su embarazo y de 5 a 13 % de los casos son tratados con un antidepresivo (Oberlander *et al.*, 2006; Cooper *et al.*, 2007; Pawluski, 2012). Sin embargo, hasta 50 % de las pacientes debe suspender la medicación dentro de los primeros meses, ya que este tratamiento puede

interrumpir el desarrollo fetal (DiPietro *et al.*, 1996; Tronick y Weinberg, 1997), también en los casos con los que se continúa en el tratamiento se ha observado una reducción del peso al nacer al igual que un aumento en el número de nacimientos prematuros (Talge *et al.*, 2007; Glover, 2011), por otro lado la mayoría de los casos de depresión post-parto se presentan durante el primer mes del puerperio, o poco después, y por lo general los síntomas alcanzan su intensidad máxima entre las 8 a 12 semanas después de que la mujer ha dado a luz (Jadresic, 2014).

Los antidepresivos frecuentemente usados para controlar las alteraciones del estado de ánimo perinatales son los inhibidores de la recaptura de serotonina (ISRS). Los ISRS actúan principalmente bloqueando el transportador de serotonina (5HTT), aumentando los niveles de serotonina (5HT) extracelular (Fig. 1). Se ha descrito que los ISRS atraviesan fácilmente la placenta y la barrera hematoencefálica (Kim *et al.*, 2006), por lo que sus metabolitos pueden llegar al feto alterando los niveles centrales de 5HT fetal. Los recién nacidos con exposición prenatal a los ISRS tienen un mayor riesgo de sufrir trastornos neuroconductuales, que incluyen una actividad motora alterada, temblores y estrés (Oberlander *et al.*, 2002). Sin embargo, existen pocas evidencias sobre los efectos a largo plazo en memoria y aprendizaje con el uso de los ISRS durante etapas críticas del neurodesarrollo como es la etapa lactante.



Figura 1. Estructura molecular de la 5HT (5-Hidroxitriptamina).

Además, la lactancia tiene claros beneficios para la madre y el niño(a), por lo tanto, la decisión médica de usar o detener el tratamiento con un ISRS en esta

etapa debe sustentarse con un análisis riguroso de los riesgos y beneficios (Jasdrec, 2014). Se considera que la mayoría de los antidepresivos son seguros durante la lactancia, pues los fármacos pasan al niño a través de la leche materna y en general sólo el 1 a 2 % de la dosis materna de cualquier fármaco aparecerá en la leche (Jadresic, 2014). Aunque el síndrome serotoninérgico puede presentarse por el aumento en las concentraciones de 5HT en niños que fueron expuestos a ISRS (Ables y Nagubilli, 2010; Wan *et al.*, 2016).

Para estudiar los efectos del uso de los ISRS en etapas críticas del desarrollo, se ha recurrido a un modelo animal para inducir depresión neonatalmente con clomipramina (CMI) en roedores, este fármaco es un ISRS y su administración durante la etapa de lactancia; (periodo en el cual la 5HT actuaría como un factor de crecimiento a través de la regulación del desarrollo propio y el relacionado con otros sistemas de neurotransmisión) (Whitaker-Azmitia *et al.*, 1996), inhibe la recaptura de 5HT modificando su acción sobre el desarrollo de diferentes sistemas de neurotransmisión, entre ellos el sistema serotoninérgico, el cual no ha terminado de madurar (Jadresic, 2014).

En el modelo con CMI se observan anormalidades fisiológicas, neuroendócrinas y de comportamiento reflejadas en etapa adulta, muy similares a las observadas en la depresión humana como: disminución en la capacidad motora y de la conducta sexual, anhedonia, etc. (Vogel 1990; Limón-Morales 2014).

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Depresión Mayor (DM)

El consenso actual es que la DM se origina por la interacción de factores genéticos, epigenéticos y ambientales que eventualmente alteran la bioquímica, la citoarquitectura y la función de áreas específicas del cerebro (Belmaker y Agam, 2008; Mill y Petronis, 2007). El puerperio es un momento de vulnerabilidad psiquiátrica que puede cursar con cuadros psicopatológicos, como la depresión post-parto y que pueden empeorar con diversos factores sociales y económicos (Olza *et al.*, 2011).

A través del tiempo se han formulado diferentes hipótesis respecto al origen de la DM que han establecido una posible relación entre la aparición del trastorno depresivo mayor y los cambios en la neuroquímica del desarrollo neuronal. Se sabe que la disminución en los niveles de alguna amina biogénica, como la noradrenalina y la 5HT, interfiere en varias funciones de la conducta, ya sea en su expresión y regulación; por otro lado, la mayoría de los tratamientos tienen como blanco terapéutico estos sistemas (Vande Kar, 1989; Manji *et al.*, 2001). A continuación, presentamos dos de las teorías más aceptadas del origen de la DM.

3.1.2 Hipótesis monoaminérgica

Esta hipótesis fue propuesta en los años sesenta por Schildkraut, la cual establece que el síndrome se origina por una menor disponibilidad de monoaminas en el cerebro, principalmente de 5HT (Kandel y Schwartz, 1991). Dicha hipótesis se basa en que la mayoría de los fármacos antidepresivos aumentan el nivel cerebral de 5HT y noradrenalina mediante la inhibición de su recaptura o de su degradación enzimática; estudios recientes aportan mayor sustento a ésta hipótesis, por ejemplo, hay imágenes con emisión de positrones (PET), en donde se revela que los pacientes con DM muestran una mayor expresión de la enzima que degrada aminas biogénicas la monoamin-oxidasa A (MAO-A) en la corteza prefrontal, la corteza temporal, el hipocampo, el tálamo, el núcleo *accumbens* (NAc) y el mesencéfalo (Meyer *et al.*, 2006). Lo que nos lleva pensar que la tasa de mayor degradación 5HT y noradrenalina es uno de los mecanismos fisiopatológicos que atenúa la transmisión monoaminérgica (Cruzblanca *et al.*, 2016).

Por otro lado, en pacientes depresivos, se ha encontrado que existe un polimorfismo (G1463A) en el gen de la enzima triptófano hidroxilasa (TPH2), una enzima limitante en la síntesis de 5HT, lo que puede sugerir que el déficit serotoninérgico podría residir en la síntesis de 5HT, ya que el cambio de un aminoácido resulta en la pérdida del 80 % de la función enzimática (Zhang *et al.*,

2005), esto por la pérdida de función de dicha enzima limitante en la síntesis de esta indolamina (Cruzblanca *et al.*, 2016).

En resumen esta hipótesis indica que una disminución en los niveles de estos neurotransmisores monoaminérgicos, ya sea por algún mecanismo fisiológico o inducido por un fármaco, podría conducir a una serie de síntomas propios de la depresión, aunque también se ha estudiado que estos síntomas pueden ser revertidos con el uso de fármacos ISRS o tricíclicos (Stahl, 2002; Jans *et al.*, 2006).

3.1.3 Hipótesis neurotrófica.

Esta hipótesis propone que la DM se debe a la atrofia neuronal, la cual es producto de la menor expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro o BDNF por sus siglas en inglés (Martinowich *et al.*, 2007). En donde también se menciona que el estrés crónico desregula el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), propiciando la exposición sostenida del tejido nervioso al cortisol y con ello, produciendo la aparición de DM a través de la inhibición de la expresión del BDNF (Belmaker y Agam, 2008).

En estudios *post-mortem* se han descrito evidencias del mecanismo neurotrófico, presentando una menor expresión del BDNF y de su receptor TrkB; receptor perteneciente a la familia de las tirosin cinasas el cual participa en la regulación de la plasticidad y la fuerza sináptica en mamíferos (Malenka *et al.*, 2009; Huang y Reichardt, 2003), en el hipocampo y la corteza prefrontal (CPF) de pacientes con DM, respecto a individuos sin padecimiento psiquiátrico al momento del deceso (Dwivedi *et al.*, 2003). Otro estudio informa que pacientes con DM bajo tratamiento farmacológico presentan una mayor expresión del BDNF en el hipocampo, comparado con pacientes sin tratamiento (Chen *et al.*, 2001).

3.2 Sistema serotoninérgico

La 5HT químicamente conocida como 5-hidroxitriptamina, es una monoamina biogénica con una amplia distribución en vertebrados e invertebrados (Belmaker y Agam, 2008). En los mamíferos, la 5HT puede encontrarse en el sistema nervioso central (SNC), donde funge como neurotransmisor (Schatzberg *et al.*, 2008) y en algunas estructuras periféricas como las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal, las plaquetas, vasos sanguíneos, los pulmones y el corazón (Belmaker y Agam, 2008; Feldman *et al.*, 1997).

En el SNC desempeña un papel importante en la regulación de la memoria y el aprendizaje, el apetito, el sueño, el estado de ánimo, la temperatura corporal, la conducta sexual, el sistema cardiovascular, etc. (Brailowsky, 1995; Belmaker y Agam, 2008; Vasiliadis *et al.*, 2007; Bear, *et al.*, 2008).

Las vías serotoninérgicas anteriores proyectan hacia la corteza cerebral, mientras que las posteriores envían sus fibras hacia las áreas del tallo cerebral y la médula espinal, ganglios basales, hipotálamo, tálamo, hipocampo, sistema límbico, corteza cerebral y cerebelo (Feldman, 1997).

La síntesis de 5HT cerebral se realiza en grupos de neuronas localizadas en los núcleos del rafe, en la región del tallo cerebral, a partir de estas áreas emergen fibras que llegan a todo el sistema nervioso. La 5HT cerebral se sintetiza a partir del aminoácido L-triptófano (Fig. 2), que proviene de la dieta, el cual es transportado activamente al cerebro a través de la barrera hematoencefálica (Brailowsky 1995; Stahl, 2002; Bear *et al.*, 2008), las neuronas serotoninérgicas tienen L-triptófano-5-monooxigenasa que junto con el factor tetrahidrobiopterina y el oxígeno convierten el triptófano en 5-hidroxitriptófano, una vez hecho esto las neuronas lo ingresan por un transportador de membrana, y ahí es hidroxilado por medio de una reacción catalizada por la enzima triptófano-hidroxilasa, para formar 5-hidroxitriptofano. Por último, el 5-hidroxitriptofano sufre una rápida descarboxilación por la enzima descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (Brailowsky, 1995; Feldman *et al.*, 1997; Bear *et al.*, 2008).

Una vez que se sintetiza la 5HT, se empaqueta en vesículas de almacenamiento y transportada por el axón hacia la hendidura sináptica (Nestler *et al.*, 2001), donde el contenido de las vesículas se libera por exocitosis ante el estímulo adecuado e interactúa con sus receptores. Una vez en la hendidura sináptica la 5HT puede unirse a sus receptores post-sinápticos (Feldman *et al.*, 1997; Bear *et al.*, 2008).

La 5HT que no se une a receptores en el espacio sináptico es metabolizada o recapturada por el transportador 5HT, el cual recaptura al neurotransmisor para ser almacenado en las vesículas o degradado por la enzima monoaminoxidasa (MAO) y convertida a ácido 5-hidroxi-indol acético (Feldman, 1997).

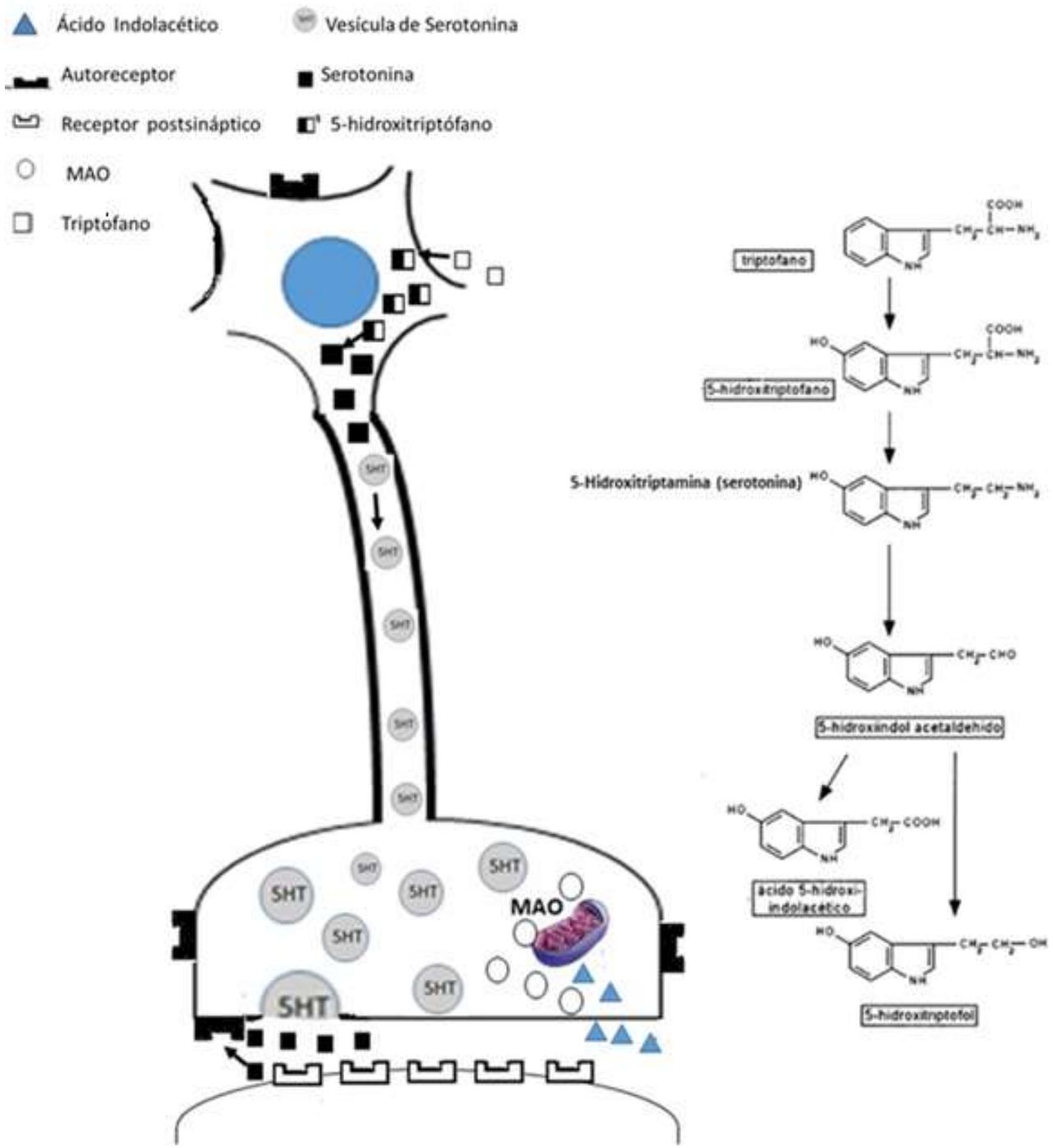


Figura 2. Diagrama de una neurona serotoninérgica mostrando los pasos de la biosíntesis de la serotonina.

Existen siete familias de receptores para 5HT, los cuales se clasifican de la 5HT1 a la 5-HT7. Todas ellas, excepto la familia 5HT3 (canal iónico dependiente de ligando), están conformadas por receptores acoplados a proteínas G (Feldman *et al.*, 1997; Hoyer *et al.*, 2002), la 5HT2 y 5HT3 regulan la transformación de la liberación de 5HT de la neurona presináptica a un impulso nervioso en la neurona postsináptica a través de la liberación de segundos mensajeros (Stahl, 2002; Drevets *et al.*, 2007); los receptores en los que centraremos nuestra atención para este proyecto son el receptor 5HT1A y el 5HT2A.

3.2.1 Receptor 5HT1A

El receptor 5HT1 se encuentra en regiones límbicas y está implicado en trastornos como la ansiedad y el control del estado afectivo (Brunton *et al.*, 2017; 2007; Sullivan *et al.*, 2005). Los receptores 5HT1 comprenden cinco subtipos: 5HT1A, 5HT1B, 5HT1D, 5HT1E, 5HT1F. Estos receptores están acoplados a proteínas Gi/o (Fig. 3) que a su vez inhiben la enzima adenilato ciclasa, disminuyendo así la producción de AMPc (Brunton *et al.*, 2012).

El receptor 5HT1A puede encontrarse en el sistema nervioso como auto-receptor somatodendrítico presináptico sobre los cuerpos celulares serotonérgicos en los núcleos del rafe (Verge *et al.*, 1985; Middlemiss y Fozard, 1983) o postsinápticos que se encuentran en células inervadas por los núcleos del rafe, como: corteza, hipotálamo, amígdala, bulbo olfatorio (Carlson, 2004; Brunton, 2017), también se sabe que el hipocampo contiene altas densidades del receptor 5HT1A postsináptico (Glennon, *et al.*, 2008), especialmente en giro dentado y la región CA3 (Yau *et al.*, 1999). Esto les permite regular a nivel presináptico la liberación de 5HT actuando como auto-receptores, y a nivel postsináptico ejerce una función primordialmente inhibitoria. Los autoreceptores serotoninérgicos presinápticos ubicados en el núcleo del rafe una vez que detectan la presencia de 5HT, interrumpen la liberación de 5HT y del impulso nervioso ejercido en la neurona serotoninérgica. Cuando la 5HT es detectada en las dendritas y el cuerpo

neuronal, el autoreceptor somatodendrítico 5HT1A es activado, después el receptor 5HT1A es capaz de inhibir el disparo neuronal de neuronas serotoninérgicas y de disminuir la liberación de 5-HT en la terminal axónica (Wang y Aghajanian, 1977; De Montigny *et al.*, 1984)

La activación de los receptores 5HT1A causa hiperpolarización neuronal, cuyo efecto está mediado a través de las proteínas G acopladas a canales de K⁺. Los receptores 5HT1A están implicados en numerosos efectos psicológicos y conductuales, como en depresión y estrés (Carlson, 2004). Estudios con PET en pacientes depresivos sin tratamiento revelan una menor densidad del receptor 5HT1A en la corteza prefrontal, el hipocampo y la amígdala (Sargent *et al.*, 2000; Savitz *et al.*, 2009), sugiriendo que la alteración en estos receptores, altera también la cantidad de 5-HT en la hendidura sináptica.

En algunos estudios se ha demostrado que los ISRS, al estar presentes en el sistema biológico a largo plazo promueven su desensibilización o regulación a la baja del receptor 5HT1A, tanto *in vitro* como *in vivo*, lo cual incrementa la cantidad de 5HT liberada (Li *et al.*, 1996; Stahl, 2002; Rausch *et al.*, 2006; Osterlund, 2010). Una vez que estos receptores se desensibilizan, el sistema serotoninérgico no puede autorregularse y como consecuencia se continúa liberando 5HT, dando lugar al efecto terapéutico de los ISRS (Stahl, 2002; Rausch *et al.*, 2006).

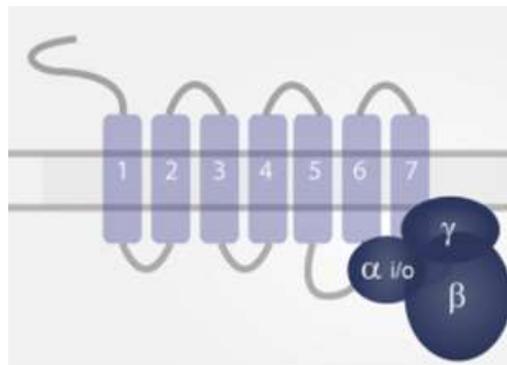


Figura 3. Receptor 5HT1A acoplado a proteínas G, en donde se observa la presencia de siete dominios transmembranales y la presencia de las tres subunidades heterotriméricas alfa, beta y gamma de la proteína G. Tomada de psicofarmacología. Consultado en Goodman & Gillman (2007).

3.2.2 Receptor 5HT2A

El receptor 5HT2A se expresa en áreas corticales (la neocorteza, la corteza entorrinal y piriforme) (Zhang *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2013), núcleo caudado, bulbo olfatorio, hipocampo y corteza prefrontal (Aghajanian y Marek, 1999; Pritchett *et al.*, 1988; Pazos *et al.*, 1985), y en neuronas piramidales glutamatérgicas de la corteza cerebral (Wright *et al.*, 1995) y en hipocampo (Zhang *et al.*, 2015; Burnet *et al.*, 2005)

Los receptores 5HT2A se expresan en las espinas, ejes dendríticos y en terminales presinápticas de las neuronas de la región hipocampal CA1 (Zhang *et al.*, 2016) y células granulares de giro dentado (Maeshima, *et al.* 1998). Se ha observado la distribución presináptica en el axón, las dendritas postsinápticas y las espinas dendríticas del receptor 5HT2A en las neuronas piramidales del hipocampo dorsal en la región CA1 (Zhang *et al.*, 2016).

Durante el desarrollo tardío es uno de los receptores ampliamente expresados en la neocorteza y el hipocampo, por lo cual podría estar implicado en procesos de maduración dendrítica y diferenciación neuronal. Este receptor está involucrado en la modulación de la expresión de BDNF en la neocorteza y el hipocampo modulando algunos procesos de desarrollo (Gaspar *et al.*, 2003).

Los receptores 5HT2A están acoplados a proteínas Gq (Raote *et al.*, 2007) (Figura 4), produciendo un aumento en la hidrólisis del inositol fosfato y de la concentración intracelular del ión Ca^{2+} (Hoyer, *et al.*, 2002).

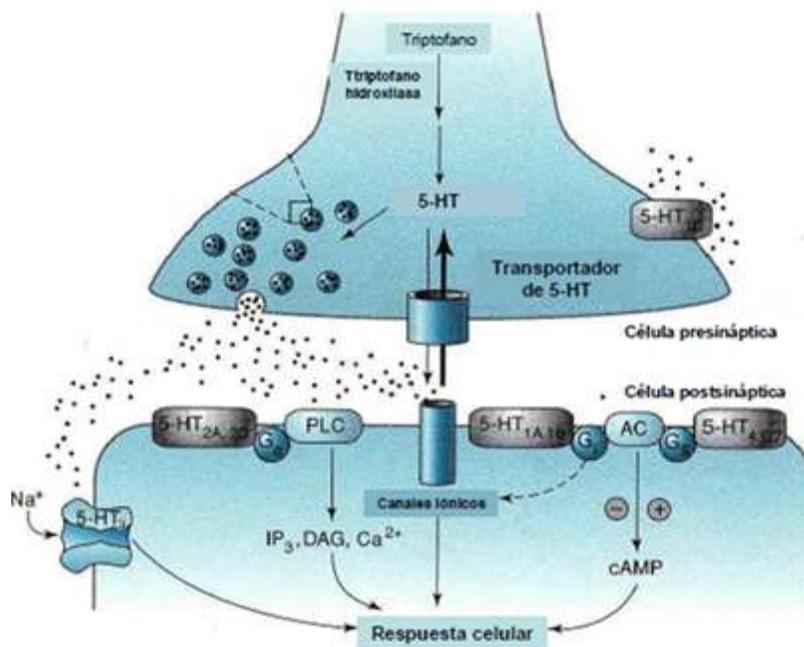


Figura 4. Vías de señalización de los receptores serotoninérgicos 5HT2A y 5HT1A (Tomada de Nestler *et al.*, 2001). En la neurona presináptica se sintetiza serotonina a partir de triptófano, después se encapsula en vesículas para liberarse a la hendidura sináptica, donde se puede unir al receptor 5HT2A, el cual está acoplado a proteínas Gs, que activan a la fosfolipasa C para formar a partir de fosfoinositolbifosfato (PIP₂): diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP₃) y liberar calcio Ca²⁺ del retículo endoplásmico liso, también serotonina se une al receptor 5HT1A, el cual está acoplado a la proteína Gi inhibitoria, está activa la adenilato ciclasa, la cual inhibe o activa la formación de adenosin-monofosfato cíclico (AMPC).

Por otro lado, se han asociado polimorfismos del receptor 5HT2A con la DM recurrente (Rosenthal *et al.*, 1998; Enoch *et al.*, 1998; Arranz *et al.*, 1995), así como también se ha observado una disminución en la expresión de este receptor (Mintun *et al.*, 2004; Fañanas *et al.*, 2016) lo que lo vincula con algunos de los síntomas de este trastorno como el déficit cognitivo (Du *et al.*, 2000; Mann *et al.*, 1997).

3.3 La 5HT y el neurodesarrollo

Las neuronas serotoninérgicas del tallo cerebral aparecen en el humano durante el desarrollo temprano del cerebro, en la sexta semana de gestación, siendo el sistema serotoninérgico uno de los primeros sistemas de neurotransmisión en desarrollarse (Lauder, 1990; Azmitia 2001; Verney *et al.*, 2002), pues en el día embrionario (E)10.5 se comienzan a expresar la enzima TPH2 y 5HTT (Boninn y Levitt, 2011). Cuando se han formado las neuronas serotoninérgicas se proyectan hacia regiones como el hipocampo, la amígdala y la corteza prefrontal, esto se lleva cabo entre los días E1.5 y posnatal 0 (P0) (Aghjanian y Bloom, 1967).

Los días P7-P20 (Fig. 5) en los roedores corresponden a las últimas etapas del desarrollo fetal y a los primeros 2-3 años en la vida postnatal en el humano. En este período se lleva a cabo el crecimiento de la masa cerebral, así como la maduración de los sistemas monoaminérgicos (Hansson *et al.*, 1998) además de afinarse los circuitos neuronales, terminando la sinaptogénesis en el día P21 (Aghjanian y Bloom, 1967). Por otro lado, y como ya se mencionó anteriormente, se sabe que 5HT es un factor neurotrófico, ya que regula diversos procesos en el neurodesarrollo críticos como división celular, diferenciación, migración, mielinización, sinaptogénesis y poda dendrítica (Gaspar *et al.*, 2003).

La inhibición de recaptura de 5HT con ISRS durante los días E14-P21 tiene un impacto importante en el neurodesarrollo, dado que la 5HT promueve el crecimiento de las neuritas, la sinaptogénesis, la diferenciación/organización celular, la neurogénesis, etc. (Kepser y Homberg, 2014), y dado el mecanismo de los ISRS produce un incremento de 5HT en la hendidura sináptica evitando su recaptura, lo cual puede tener implicaciones importante durante esta etapa.



Figura 5. Esquema temporal entre humanos y roedores del desarrollo seroténergico. (Kepser y Homberg, 2015). Los neonatos expuestos prenatalmente a ISRS aumentan riesgo de trastornos neuroconductuales que incluyen alteración en la actividad motriz, temblores (Moses-Kolko *et al.*, 2005; Oberlander *et al.*, 2002) y en la regulación del estrés/dolor (Oberlander *et al.*, 2002).

3.4 Aspectos neuroanatómicos

El sistema límbico está formado por varias estructuras cerebrales que se encargan de regular las correspondientes respuestas fisiológicas ante estímulos emocionales. Está relacionado con la memoria, la atención, la conducta sexual, las emociones (por ejemplo: placer, miedo, agresión), etc. Está formado por el tálamo, hipotálamo, hipocampo, amígdala cerebral, cuerpo caloso, séptum y mesencéfalo, las cuales reciben inervaciones de diferentes sistemas de neurotransmisión que se han vinculado con la etiología de la DM como son: 5HT y noradrenalina (MacQueen *et al.*, 2003).

3.4.1 Hipocampo y depresión

Uno de los cambios estructurales importante que se ha observado en la DM es la reducción del hipocampo (Campbell *et al.*, 1999), que presenta una disminución promedio del 8-10%, en donde se produce un cambio ya sea bilateral o en sólo uno de los hemisferios. También se reporta una reducción significativa únicamente

en pacientes que presentaron episodios depresivos recurrentes (MacQueen *et al.*, 2003) o bien el decremento se correlaciona inversamente con la duración del episodio depresivo (Sheline *et al.*, 1999).

3.4.2 Hipocampo y memoria

El hipocampo es una estructura crítica para procesar, recordar información espacial y contextual. La lesión en esta estructura o en sus vías de salida de información como el fórnix, afecta el aprendizaje de laberintos radiales y los laberintos de agua (Andersen *et al.*, 2002; Eichenbaum y Cohen, 2014).

Experimentos con el laberinto acuático de Morris (LAM) sugieren que cuando hay lesiones en el hipocampo o de otras estructuras de formación hipocampal, puede haber un deterioro al realizar esta tarea, además de déficits en la adquisición y retención de la tarea con la plataforma escondida, pero no en la tarea con plataforma-visible (Pearce *et al.*, 1998). Los trabajos realizados en el LAM sugieren la implicación del sistema hipocampal en la formación de asociaciones o representaciones complejas entre los estímulos (Eichenbaum 1999). Esto permite relacionar al hipocampo como centro de integración de áreas corticales relevantes para la percepción y la memoria, que intervienen en la codificación de las asociaciones entre las características espaciales y temporales de los estímulos ambientales (Daselaar *et al.*, 2006; Kessels *et al.*, 2001).

3.5 BDNF

El factor BDNF es la neurotrofina que tiene mayor expresión en el cerebro de los mamíferos, de manera particular en la corteza cerebral y el hipocampo (Duman *et al.*, 2001), la región basal del prosencéfalo, en tejidos periféricos como riñones, próstata y sangre (Anderson, 2018). Forma parte de la familia de las neurotrofinas, la cual está constituida, además, por los siguientes miembros: factor de crecimiento neuronal (NGF), neurotrofina 3 (NT-3), neurotrofina 4/5 (NT-4/5) (Nilsson *et al.*, 1998; Götz *et al.*, 2002; Huang y Reichardt, 2004).

El BDNF es expresado principalmente en las células nerviosas, es sintetizado como proBDNF en el retículo endoplasmático, el cual después es plegado y empaquetado en vesículas secretoras que son liberadas en las espinas dendríticas de manera post-sináptica y otras son transportadas a terminales axónicas mediante transporte anterógrado, donde pueden ser expulsadas al espacio extracelular (Mowla *et al.*, 1999). En los procesos generativos de nuevas neuronas y espinas dendríticas durante la potenciación a largo plazo es crucial la acción por parte de BDNF, por otra parte, está involucrado en procesos de memoria, el aprendizaje, plasticidad sináptica y la conectividad neuronal (Binder y Scharfman, 2004). Existen diversos estudios en donde se evidencia que la administración exógena del BDNF potencializa la fuerza sináptica y la arborización de neuronas corticales e hipocámpales (Mamounas *et al.*, 2001).

En la neurona presináptica el BDNF incrementa la liberación de neurotransmisores (a través de la fosforilación de proteínas que forman parte del sistema de liberación) (Tyler *et al.*, 2006), mientras que sus acciones en la postsinapsis incluyen la fosforilación de receptores a glutamato, tanto de tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) y no NMDA (Lin *et al.*, 1998), la producción de mensajeros retrógrados, la elevación de concentraciones de calcio y la activación de síntesis proteica (Yamada *et al.*, 2002). La expresión de este factor puede conducir a la diferenciación neuronal, dependiendo de si las células expresan los receptores de noradrenalina o 5-HT apropiados.

4. ANTECEDENTES

4.1 Modelo de depresión inducido neonatalmente por CMI (Clomipramina)

Debido a implicaciones éticas para estudiar algunos aspectos de la depresión que no pueden ser analizadas en humanos se ha recurrido al uso de modelos animales, uno de ellos es el modelo inducido neonatalmente por CMI.

Un modelo animal es una manipulación experimental que reproduce un estado, el cual busca semejarse a los síntomas del síndrome en humanos (Willner, 1994).

Los modelos animales permiten por ejemplo detectar el potencial terapéutico de algunos fármacos, así como también su mecanismo de acción y por tanto permitir explicar el sustrato neurobiológico que está implicado en la depresión (Nestler y Hyman, 2010; Abelaira *et al.*, 2013). Cabe destacar que estos modelos presentan sus limitaciones en cuánto al estudio del trastorno en humanos, pues los últimos son más complejos, ya que presentan tristeza, culpa o pensamientos suicidas (Nestler y Hyman, 2010).

Los modelos animales que simulan condiciones psiquiátricas, como el trastorno de la depresión deben cumplir con ciertos criterios de validez que permitan ser relevantes para el estudio de alguna patología humana (Belzung y Lemoine, 2011; McGonigle, 2014). Se han propuesto tres criterios de validez:

- 1) Validez predictiva: evalúa e identifica fármacos con potencial terapéutico, el cual pueda revertir los efectos de esta condición inducida en el modelo animal. Un modelo con excelente validez predictiva permitirá incluso el ensayo de nuevas sustancias experimentales (potenciales psicofármacos) y, en función de los efectos observados, predecir el tipo de efecto que tendrá sobre la condición humana que se simula. El concepto de validez predictiva alcanza también a la similitud, entre el modelo y aquello que modela, en el tipo de régimen de tratamiento (ejemplo: crónico o agudo) que resulta eficaz (Escorihuela y Fernández, 1998).

- 2) Validez de apariencia: indica que un modelo animal debe reflejar similitudes fenomenológicas entre las manifestaciones conductuales observadas en el modelo animal y los síntomas observados en el ser humano. La validez aparente se refiere a la existencia de similitud fenomenológica entre aquello que se observa en el modelo y el proceso o trastorno (psicopatológico) que se intenta simular. En general la validez aparente de los modelos animales dependerá de la unanimidad y precisión en los criterios vigentes para el diagnóstico de la psicopatología que se pretende simular. El hecho de que en muchos casos la sintomatología humana se basa en la verbalización de

experiencias subjetivas, imposibles de simular en animales de laboratorio, lo cual dificulta el estudio del estado que se desea analizar (Escorihuela, Fernández, 1998).

- 3) Validez de constructo: también conocida como teórica, la cual indica que debe de haber similitud teórica entre la sintomatología modelada en el modelo animal y el trastorno depresivo, por mencionar algunos los cambios en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), la atrofia hipocampal, cumple la teoría monoaminérgica, entre otros (Willner, 1984).

Para estudiar las alteraciones en la conducta la mayoría de los modelos animales se generan por la exposición a factores que provoquen cambios en su fisiología, que reproduzcan los signos en el animal equivalentes a los síntomas en el humano. Se han desarrollado nuevos modelos por medio de manipulaciones a largo plazo (farmacológicas o genéticas) que pretenden modelar una predisposición a desarrollar depresión (Willner y Mitchell, 2002; Czéh *et al.*, 2015), este modelo de depresión inducido por CMI involucra una manipulación farmacológica en etapas tempranas, pero cuyos efectos conductuales se observan en la edad adulta (Limón-Morales *et al.*, 2017).

Debido a la manipulación farmacológica con CMI durante un periodo crítico en el neurodesarrollo (aunque no es el único particularmente del sistema de neurotransmisión serotoninérgico), se presentan en la etapa adulta signos tales como: anhedonia la cual se observa en el modelo animal como una disminución de la autoestimulación intracraneal, de la conducta sexual y el consumo de sacarosa (Vogel *et al.*, 1990; Velázquez-Moctezuma y Díaz-Ruiz, 1992). Además, en este modelo se presentan alteraciones en el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (Neill, *et al.*, 1990; Vogel *et al.*, 1996; Bonilla-Jaime *et al.*, 1998; Bonilla-Jaime *et al.*, 2003b); menor peso, desregulación del eje HHA, alteraciones en la actividad locomotora y en el aprendizaje (en la tarea de evitación pasiva y el laberinto radial de 8 brazos). Por lo que cumple con el criterio de validez de

aparición, pues se asemejan los signos que presenta el animal con varios de los síntomas observados en pacientes con depresión (van der Staay y Arnult, 2009).

Este modelo cumple también con el criterio de validez predictiva, el cual expone que las manipulaciones que modifican la patología en el humano (mejorando sus síntomas) también deben hacerlo en el modelo animal, por ejemplo, al administrar fármacos antidepresivos en la etapa adulta revierte las alteraciones conductuales observadas en el modelo (Willner, 1995; Geyer y Markou 1995; Cryan *et al.*, 2002; Duman, 2010).

4.2. Participación de los receptores 5HT1A, 5HT2A y BDNF en el desarrollo y memoria

4.2.1 Receptor 5HT1A y memoria

Estudios de localización de cada uno de los miembros principales de familias de receptores serotoninérgicos han mostrado que tienen una expresión diferencial en las etapas del desarrollo pre y postnatal (Gaspar *et al.*, 2003).

El receptor 5HT1A se expresa temprano en la vida embrionaria, principalmente en los núcleos del rafe e hipocampo, y se expresa transitoriamente en neuronas motoras espinales y cerebelo después del nacimiento (Gaspar *et al.*, 2003). Hay estudios *in vivo* que indican que la mayoría de los efectos del receptor en el desarrollo se relacionan con el control de la neurogénesis y la maduración dendrítica del hipocampo, en el giro dentado y el área subventricular. La 5HT participa en la diferenciación dendrítica, así como la inhibición en la etapa postnatal temprana, reduciendo la longitud y el número de espinas dendríticas de las neuronas del hipocampo, en donde posiblemente depende del receptor 5HT1A (Gaspar *et al.*, 2003; Yan, Wilson y Haring, 1997).

Se sabe que este receptor está implicado en la disminución de la memoria, pues un aumento o desregulación en las áreas hipocampales CA2-CA4, genera una

disminución en la retención en la prueba del LAM (Chen *et al.*, 1995; Nasser *et al.*, 2005).

4.2.2 Receptor 5HT2A y memoria

El receptor 5HT2A se expresa en el desarrollo tardío, lo cual podría indicar que está implicado en procesos de maduración. Algunos estudios indican que el receptor 5HT2A participa en la diferenciación neuronal, la maduración dendrítica, la neurogénesis y puede estar implicado en desórdenes mentales, alterando procesos como la memoria y aprendizaje (Raote *et al.*, 2007). Este receptor está involucrado en la modulación del factor neurotrófico BDNF en neocorteza y el hipocampo relacionado a algunos procesos del neurodesarrollo (Gaspar *et al.*, 2003).

La administración de agonistas del receptor 5HT2A mejora la consolidación de la memoria en ratas (Alhaider *et al.*, 1993), primates (Williams *et al.*, 2002) y humanos (Nic Dhonnchadha y Cunningham, 2008). La activación del receptor 5HT2A en el hipocampo se ha analizado con relación a la mejora en la consolidación de la memoria evaluada en la prueba de objeto novedoso en ratones (Zhang *et al.*, 2016), en donde el receptor 5HT2A puede participar en tareas dependientes de hipocampo a través de la modulación de mecanismos postinápticos y presinápticos, incrementando el disparo neuronal y la liberación de glutamato en la región CA1 de hipocampo (Zhang *et al.*, 2018), su activación produce un aumento en la frecuencia y amplitud de las corrientes postsinápticas excitatorias de neuronas corticales (Aghajaniy Marek, 1999), facilitando la actividad del receptor NMDA y la plasticidad sináptica de la corteza (Arvanov *et al.*, 1999) y la amígdala basolateral (Chen *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2016).

4.2.3 BDNF y memoria

BDNF como anteriormente mencionamos participa en mecanismos de aprendizaje y memoria. Es transportado desde las neuronas granulares de la circunvolución dentada a las neuronas piramidales de la región CA3 y el cual se sabe que en la

ausencia de este factor provoca que las células entren en procesos de apoptosis (Caetano *et al.*, 2007).

Se ha encontrado que los niveles séricos de este factor están disminuidos en pacientes con DM, en comparación con controles sanos; a su vez, estos niveles se incrementan después del tratamiento con antidepresivos (Aydemir *et al.*, 2005). Algunos estudios señalan que el BDNF, puede actuar como molécula candidata asociada a los cambios estructurales en modelos de depresión y como blanco potencial para los antidepresivos. Diferentes estudios sugieren la implicación del BDNF en la fisiopatología de los trastornos afectivos, como también se ha demostrado que es blanco de los antidepresivos y estabilizadores del estado de ánimo (Nestler *et al.*, 2002; Hashimoto *et al.*, 2004). Se ha reportado que el tratamiento con antidepresivos genera cambios plásticos en la conectividad neuronal, los cuales conducen de manera gradual a una mejora en el procesamiento de la información con una posterior recuperación neuronal del ánimo (Castren, 2004). Estos estudios constituyen una base de la teoría molecular neurotrófica de la depresión y del efecto de los agentes antidepresivos normalizando los niveles de glucocorticoides y aumentando los niveles de BDNF (Duman, 2001; Duman *et al.*, 2002).

5. JUSTIFICACIÓN

La depresión mayor DM constituye uno de los trastornos psiquiátricos más comunes y severos con efectos a nivel social, laboral y otras áreas en las que se desarrolla un individuo (APA, 2000) y que repercute en términos humanos y económicos. Una gran parte de las personas con depresión son mujeres en la etapa reproductiva las cuales deben recurrir a terapias farmacológicas para tratar su sintomatología. Suele denominarse al tercer trimestre como un periodo seguro en la utilización de fármacos antidepresivos, dado que se han completado los procesos de organogénesis, sin embargo, durante este periodo aún se continúan procesos de neurodesarrollo, en el que es de particular importancia el sistema serotoninérgico.

En el modelo de depresión inducido por CMI se han descrito alteraciones en el comportamiento las cuales son similares a los signos reportados por pacientes depresivos, entre los que se encuentra el déficit cognitivo, relacionadas con la administración de este fármaco en etapa neonatal cuando el sistema serotoninérgico aún no está completamente maduro.

Se sabe que los receptores 5HT1A, 5HT2A y BDNF participan en la consolidación de la memoria y en las capacidades cognitivas, sin embargo se le ha relacionado la alteración en sus niveles de expresión en pacientes con depresión. Sin embargo, no se conocen los efectos de la administración neonatal de CMI sobre la expresión de 5HT1A, 5HT2A y BDNF, y su relación con la memoria por lo que resulta de interés su análisis.

6. HIPÓTESIS

El tratamiento neonatal con CMI modificará la expresión de los receptores 5HT1A (incremento) y 5HT2A (disminución), a su vez producirá una disminución en los niveles de BDNF en hipocampo en la etapa adulta, lo cual producirá deterioro de la memoria espacial.

7. OBJETIVO GENERAL

Analizar la expresión de BDNF y los receptores 5HT1A, 5HT2A en hipocampo en relación con la memoria espacial en ratas macho adultas que previamente fueron tratadas con CMI durante la segunda y tercera semana de vida posnatal.

7.1 *Objetivos particulares*

- ❖ Estudiar el efecto de la administración de CMI los días 8-21 de vida neurodesarrollo sobre la memoria espacial de ratas adultas.
- ❖ Evaluar el efecto la CMI administrada durante la etapa neonatal en la expresión de BDNF y los receptores 5HT1A, 5HT2A en hipocampo de ratas macho adultas.

8. METODOLOGÍA

8.1 *Modelo animal de depresión neonatalmente inducido por CMI*

Se utilizaron seis ratas de la cepa Wistar hembras de tres meses de edad, con un peso promedio de 300 g, cada una fue colocada en presencia de un macho sexualmente experto permitiéndoles la cópula hasta que los machos alcanzaran dos eyaculaciones como mínimo. A este día se le tomo como día 0 de gestación, posteriormente cada una fue separada en una caja individual mantenidas en ciclos invertidos de 12:12 horas de luz-oscuridad (luz de 20:00 a 8:00 h) a una temperatura constante (24 °C) y con libre acceso a comida y agua. Tres días después del nacimiento, los machos de las camadas fueron mezclados y se colocó un número igual de crías con cada hembra nodriza (n=6), mientras que las crías hembras fueron descartadas del experimento.

Del día 8 al 21 de vida posnatal las crías fueron divididas en dos grupos: grupo control (0.1 ml de solución salina) y grupo experimental (15 mg/kg de clorhidrato de CMI en un volumen de 0.1 ml). A cada grupo se le aplicó una inyección, por vía subcutánea dos veces al día (8:00 y 18:00 h). A los 25 días de edad los neonatos

macho fueron separados de sus madres y divididos en grupos (n=6). Una vez cumplidos los tres meses (90 días) de edad tanto los machos control como experimentales fueron sometidos a los siguientes experimentos.

8.2 Prueba del laberinto acuático de Morris

Se utilizó una piscina circular de 2 m de diámetro y aproximadamente 60 cm de profundidad llena de agua, la cual fue enturbiada con pintura no tóxica cuya temperatura oscilaba entre 18 y 27 °C, en la que se situó una plataforma sumergida que debió ser localizada por el animal, sobre las paredes se colocaron dos señales (un cuadro y un mueble, además del experimentador permanecía en el mismo lugar), para la ubicación espacial del animal. El laberinto es una tarea espacial en la que los animales debían nadar desde diferentes puntos de salida, que se situaron en el perímetro de la piscina para que encontraran la plataforma sumergida en el agua. Esta consistió en una fase de entrenamiento o de adquisición (seis sesiones) en donde el animal se introdujo con el hocico apuntando hacia las paredes de la piscina para que buscará la plataforma durante 60 s, en caso de que no la encontrará se le colocó entre 20 o 30 s en la plataforma con el fin de que asociara su ubicación mediante las señales espaciales. Se consideraba que el animal había encontrado la plataforma cuando permanecía en ella 5 o 10 s. Después se retiraba al animal de la plataforma y se le dejaba descansar brevemente antes de que iniciara el siguiente ensayo, este procedimiento se repitió en los distintos ensayos y a lo largo del entrenamiento o adquisición, el cual duró seis días. La capacidad del animal para localizar eficientemente la plataforma dependía de la utilización de las claves que rodeaban a la piscina, como ya se mencionó antes un cuadro y un mueble (Prados y Trobalon, 1998). Después de esta fase de adquisición, se realizó una prueba final de retención o «ensayo de prueba» sin la plataforma durante 60 s. Esta es una prueba de preferencia espacial en la que, si el animal había aprendido a nadar más tiempo en el cuadrante meta, es decir, donde previamente estaba situada la plataforma (Figura 6), además sobre este día se analizó las veces que el animal

paso sobre el espacio donde se situó anteriormente la plataforma (cruces) y las veces que el animal paso en la periferia de donde se encontraba la plataforma durante el entrenamiento (pases).

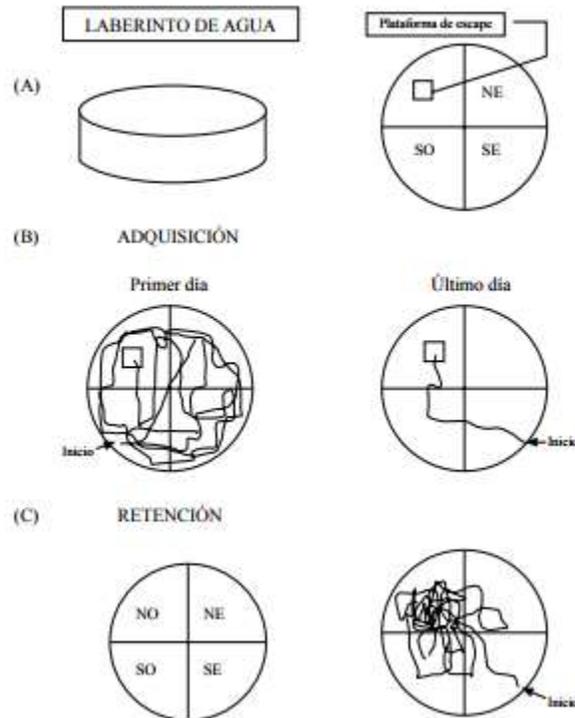


Figura 6. Laberinto acuático de Morris. (A) Laberinto de agua y lugar donde se sitúa la plataforma sumergida (representada por un pequeño cuadrado). (B) Trayectoria que realiza el animal para alcanzar la plataforma sumergida durante la fase de adquisición. En el primer día de entrenamiento muestra un patrón de búsqueda desorientado, mientras que el último día su trayectoria es directa hacia la plataforma sumergida. (C) Trayectoria del animal en la prueba final sin plataforma. En esta prueba de retención la rata nada más tiempo en el cuadrante donde estaba situada la plataforma. Tomado de (Vicens *et al.*, 2003)

8.3 Análisis de la expresión de los receptores 5HT1A, 5HT2A y BDNF

8.3.1 Obtención de las muestras

Después de finalizar las pruebas de memoria los animales se les practicó eutanasia por decapitación.

Se les extrajo el encéfalo en condiciones asépticas y se utilizó material previamente estéril y se procedió a disecar el hipocampo. El tejido se pesó y se

almacenó a -70°C hasta su utilización para la extracción del ácido ribonucleico (ARN) total.

8.3.2 Obtención y cuantificación del ARN total.

El tejido (50 mg) se homogenizó en 500 μl de trizol, posteriormente se adicionaron 100 μl de cloroformo, para después centrifugar las muestras a 13824 g durante 19 minutos a 4°C , inmediatamente después, se recolectó el sobrenadante y se agregó un volumen igual de isopropanol ($0-4^{\circ}\text{C}$ al 0.1 %), las muestras se incubaron de 10-15 minutos a 4°C .

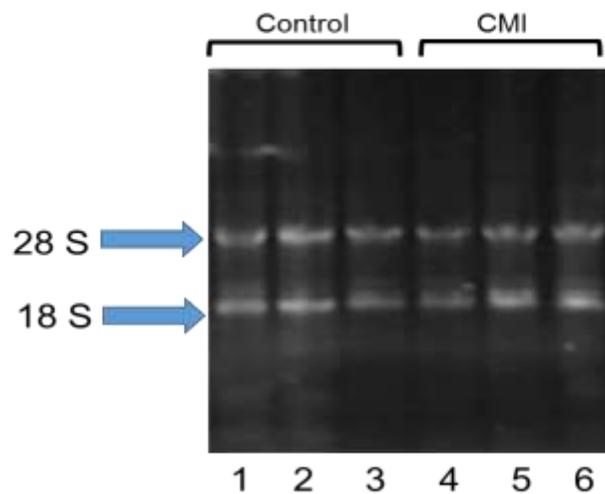


Figura 7. Gel de agarosa representativo teñido con Gel Red® para observar la integridad del ARN extraído de hipocampo de animales control y tratados con CMI. Se distinguen las bandas del ARN ribosomal correspondientes a las subunidades 28S y 18S.

Posteriormente, se centrifugaron bajo las mismas condiciones antes descritas. El ARN que se precipitó se lavó con etanol al 75% en agua tratada previamente con dietil-pirocarbonato (agua DEPC), el precipitado de ARN se resuspendió en un volumen total de 30-50 μl de agua DEPC. La cantidad y calidad del ARN extraído (Figura 7), se evaluó a través del índice de absorbancia de $260/280\text{ nm} > 2.1$.

8.3.3 Síntesis de ADN complementario (Reacción en cadena de la polimerasa mediante Transcriptasa reversa) (RT-PCR).

Posteriormente se llevó a cabo la síntesis del ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) empleando la transcriptasa reversa del virus de la leucemia murina de Moloney. Se tomaron 5 µg de ARN de cada muestra, se adicionaron agua estéril y Oligo dT 1 µg/µL a un volumen total de 13 µL. Las muestras se desnaturalizaron a 65 °C durante 5 minutos. Inmediatamente después se incubaron a 4 °C durante 5 minutos. Posteriormente, se adicionaron un volumen total de 7 µL de la mezcla de reacción que contiene amortiguador para RT 5X, dNTPs (2'-desoxinucleósido'trifosfos) (2.5mM): dNTP, dATP, dCTP, dGTP, y dTTP e inhibidor de ARNasa (1 U/µL) y retrotranscriptasa (200 U/µL) a 42 °C durante 1 hora. Con una etapa final a 70 °C durante 5 minutos.

8.3.4 Análisis de la expresión 5HT1A, 5HT2A y para BDNF por PCR cuantitativo (qPCR)

Se utilizó ADNc de una muestra correspondiente al grupo CTRL elegida al azar, la cual se usó para realizar los rangos dinámicos (curva estándar, Figura 8) para validar la eficiencia de amplificación de las sondas utilizadas y así determinar las concentraciones de ADNc a utilizar para el análisis de la expresión de cada uno de los genes. Se realizaron curvas standard para cada una de las sondas utilizadas a partir de diluciones seriales del ADNc 1:10, los valores de Ct que se obtuvieron a partir de la amplificación se graficaron para formar una regresión semilogarítmica. Para el análisis de la expresión de los genes de interés se emplearon 25 ng de ADNc por reacción, esto para un análisis por triplicado de cada una de las muestras para realizar un qRT-PCR (40 ciclos a 95 °C de desnaturalización, 60 °C de alineamiento y 60 °C de elongación) en el cual se usó una mezcla de reacción TaqMan® Gene Expression Master Mix.

Las sondas TaqMan® para el receptor 5HT1A (Rn00561409_s1), 5HT2A (Rn005684473_m1), y BDNF (Rn02531967_s1), utilizando como gen endógeno y control de expresión el transcrito de HPRT (Hipoxantina de guanina fosforibotransferasa) (Rn01527840_m1).

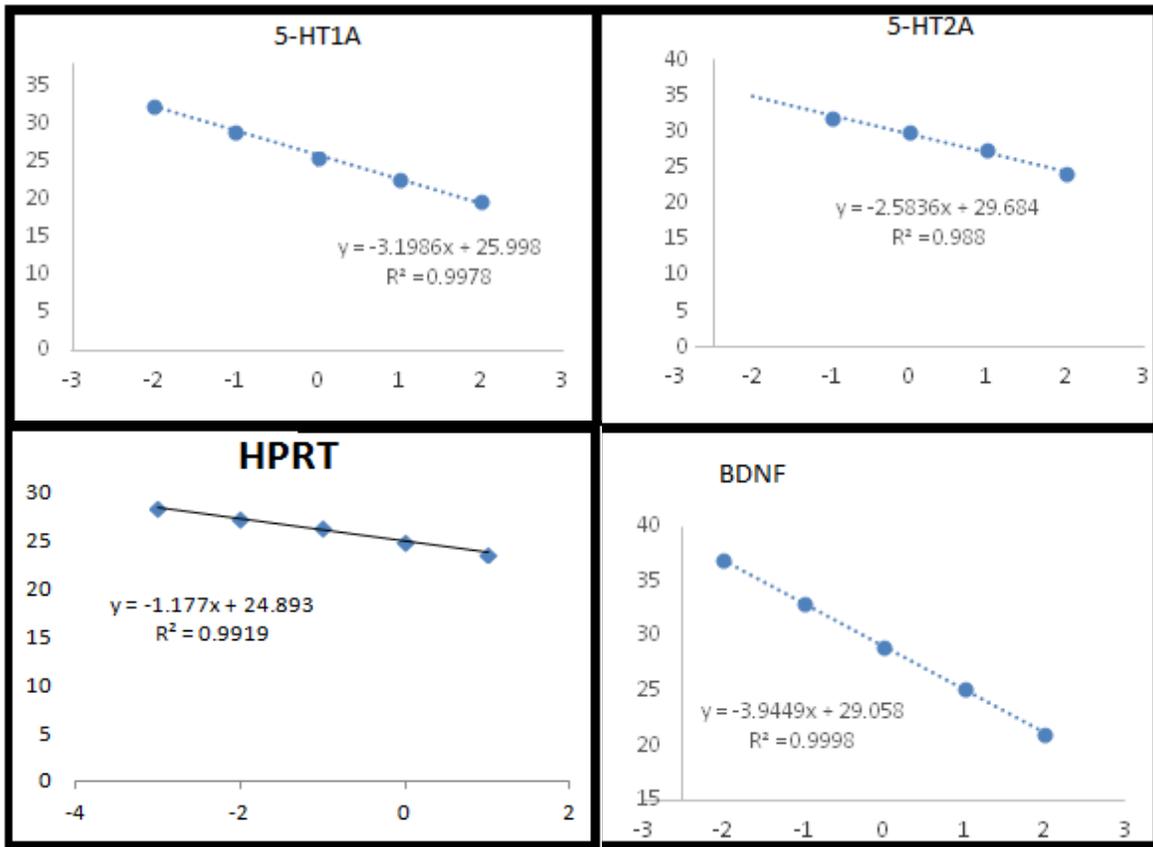


Figura 8. Rangos dinámicos para la estandarización de la técnica de RT-PCR en el laboratorio.

8.3.5 Análisis estadístico

El programa Sequence detection software 1.3 (Applied Biosystem) se utilizó para el análisis de los datos. Para calcular los cambios relativos en la expresión de los genes a analizar se utilizó el método comparativo de Ct ($2^{-\Delta\Delta CT}$), calculando la desviación estándar de $2^{-\Delta\Delta CT}$ para tres experimentos independientes.

Todos los datos numéricos se expresan como media \pm E.E. de tres experimentos independientes. El análisis estadístico para cada serie de datos se realizó utilizando una t de student.

9. RESULTADOS

9.1.2 Evaluación del efecto del tratamiento con CMI en la prueba de laberinto acuático de Morris (LAM)

En la Figura 9. se presentan los recorridos representativos en la prueba del LAM para cada uno de los grupos durante los seis días de entrenamiento, se puede observar que el grupo control va disminuyendo la distancia de su recorrido conforme transcurren los días, sin embargo, el grupo tratado con CMI disminuye la distancia de recorrido a la plataforma de forma más lenta.

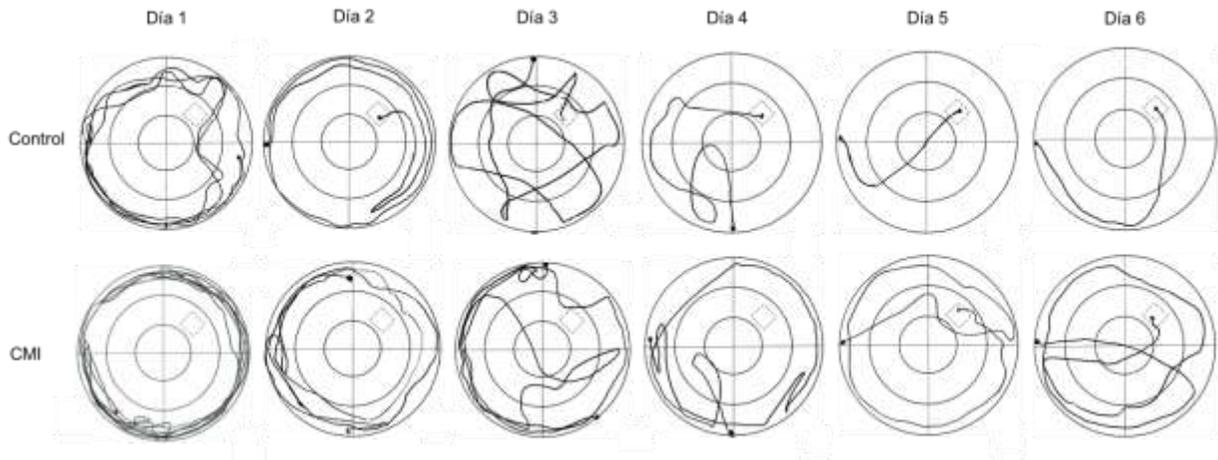


Figura 9. Esquemas representativos de los recorridos de cada uno de los días de entrenamiento para el grupo tratado con CMI y control. Se puede observar que el grupo control disminuye la distancia de recorrido más rápidamente que el tratado con CMI.

La latencia de escape (tiempo que tarda el animal en llegar a la plataforma) en la tarea de LAM se puede observar en la Figura 10, que a lo largo de los días de entrenamiento (1-6 días) ambos grupos disminuyen el tiempo de recorrido, sin embargo, los individuos del grupo tratado con CMI muestran dificultad para encontrar la plataforma en la fase de entrenamiento, por lo que la latencia de escape disminuye de forma más lenta y durante los días 1, 3 y 4 de entrenamiento muestra una latencia mayor que el grupo control ($p < 0.05$).

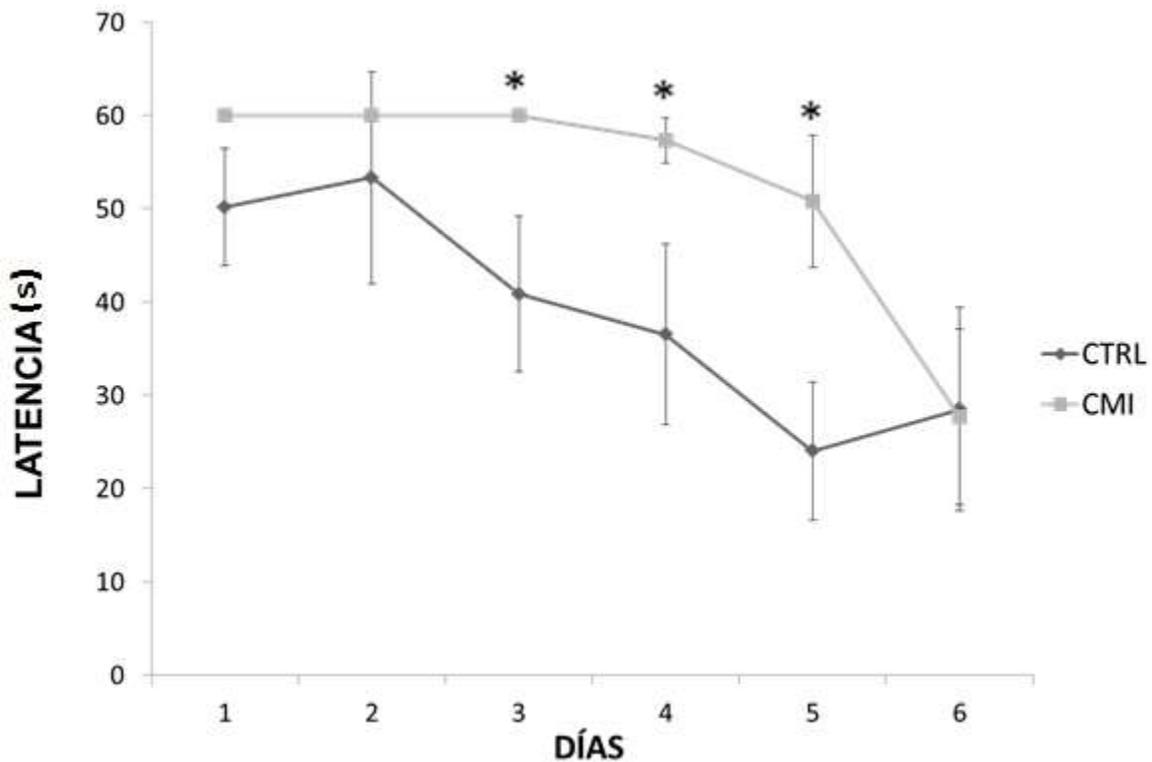


Figura 10. Efecto de la administración neonatal de CMI sobre el tiempo (latencia) para llegar a la plataforma durante la PLM. En el grupo tratado neonatalmente con CMI se observa un incremento en el tiempo y (CTRL), $n = 6$, media \pm E.E. $*p < 0.05$.

Con respecto a la distancia de recorrido en la tarea de LAM (Figura 11) se observó que el grupo control va disminuyendo la distancia recorrida en cada uno de los días. En el grupo tratado con CMI se observa que durante prácticamente en todos los días es mayor ($p < 0.05$) con respecto a grupo control.

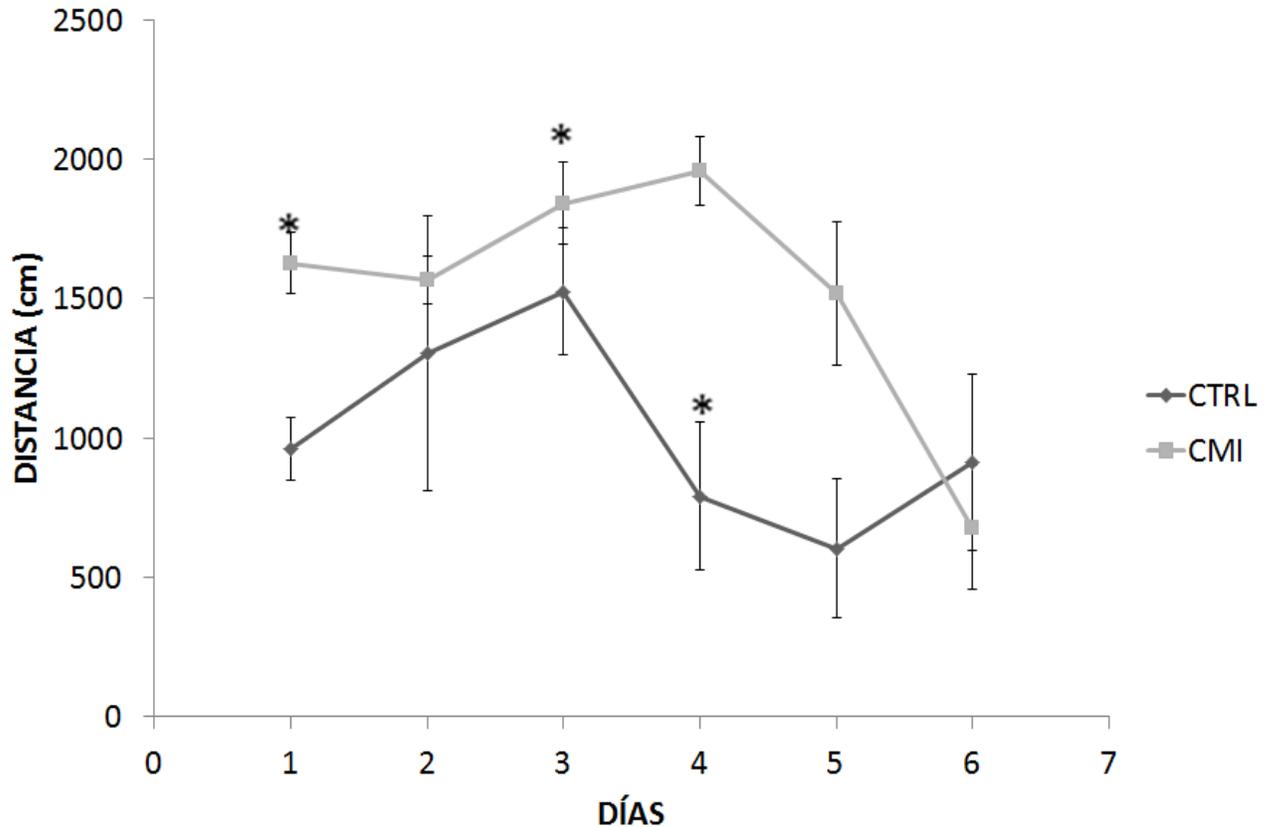


Figura 11. Efecto de la administración neonatal de CMI sobre la distancia recorrida en cada uno de los días de entrenamiento en la prueba de LAM. Se presentan las distancias que realizó cada animal para llegar a la plataforma durante la LAM. En el grupo tratado neonatalmente con CMI se observa un incremento en la distancia el día 5 y una disminución en el (CTRL) en el día 6, $n = 6$, media \pm E.E. * $p < 0.05$.

En la Figura 12 se presenta el efecto del tratamiento con CMI, sobre el número de cruces (número de veces en las que el animal nadó sobre el lugar donde se encontraba la plataforma) en el séptimo día de prueba (fase de consolidación). Se observa que el tratamiento con CMI en etapas tempranas produce una disminución en el número de cruces con respecto al control ($p < 0.05$), es decir; los animales tratados con CMI ubican o recuerdan en menor medida el lugar en donde se encontraba la plataforma comparado con el control.

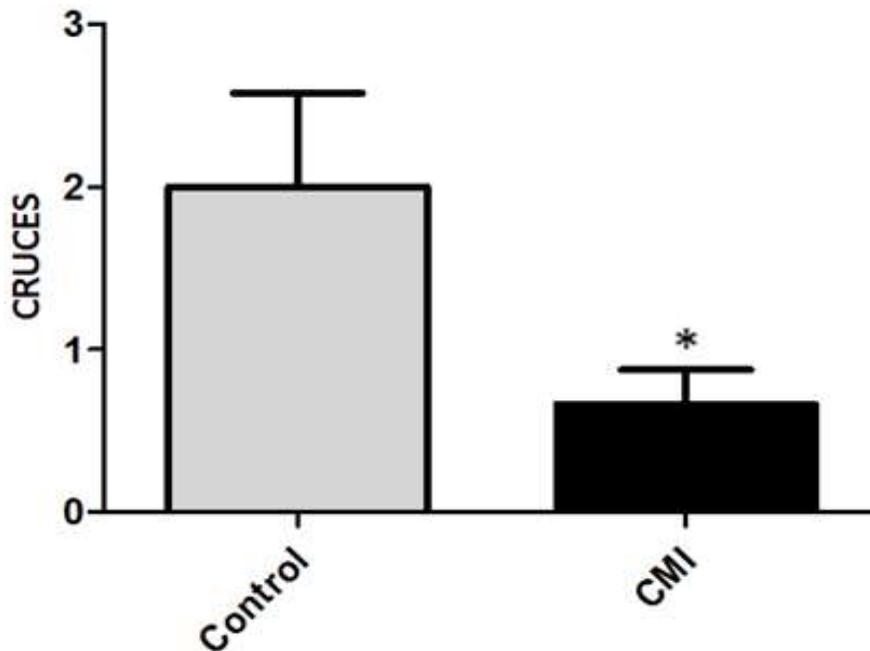


Figura 12. Efecto de la administración neonatal de CMI en el séptimo día, en el cual el animal atravesó el cuadrante dónde se encontraba la plataforma después de retirarla en el día 7, del grupo control y el grupo CMI para llegar a la plataforma durante la PLM. En el grupo tratado neonatalmente con CMI se observa un incremento en el (CTRL), $n= 6$, media \pm E.E. * $p < 0.05$.

En la Figura 13 se presenta el efecto del tratamiento con CMI sobre el número de pases (veces que pasa el animal en la periferia de la región donde se encontraba la plataforma) al séptimo día (fase de consolidación) de la prueba del LAM. El tratamiento con CMI produce que se incremente significativamente el número de pases ($p < 0.05$), lo cual podría relacionarse con el hecho de que la rata no puede ubicar con exactitud el lugar en donde se encontraba la plataforma.

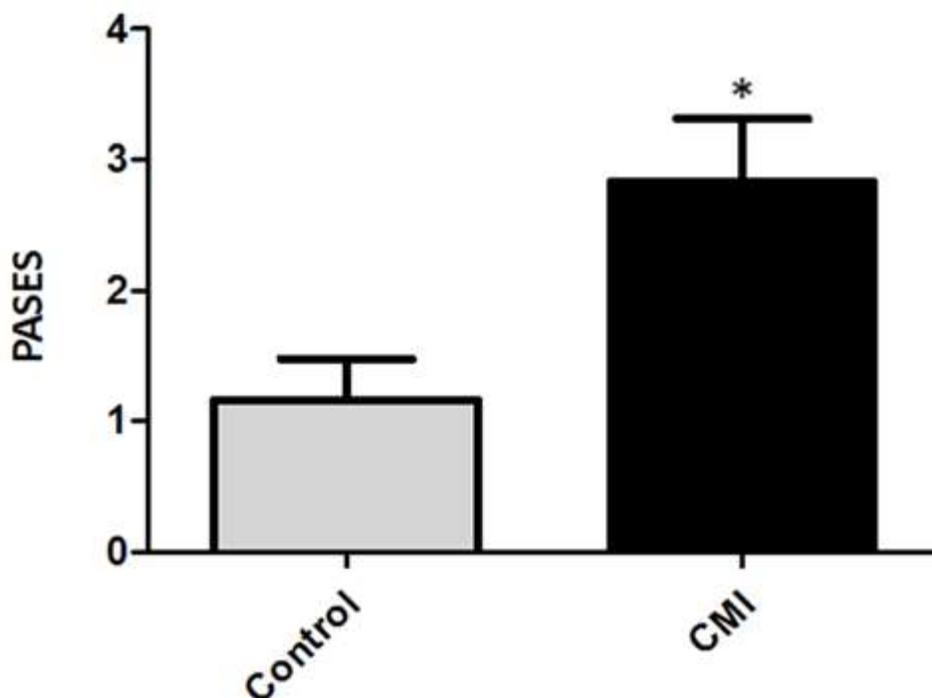


Figura 13. Efecto de la administración neonatal de CMI en el séptimo día, en el cual el animal pasa muy cerca del cuadrante dónde se encontraba la plataforma después de retirarla en el día 7, del grupo control y el grupo CMI para llegar a la plataforma durante la prueba LAM. En el grupo tratado neonatalmente con CMI se observa un incremento en el (CTRL), $n= 6$, media \pm E.E. * $p < 0.05$.

Los resultados en la Figura 14 revelan el efecto del tratamiento con CMI en ratas Wistar adultas al séptimo día (fase de consolidación) de la prueba del LAM. Se observa que los animales del grupo CMI permanecen menor porcentaje de tiempo en el cuadrante donde se encontraba la plataforma, presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) en comparación con el grupo control.

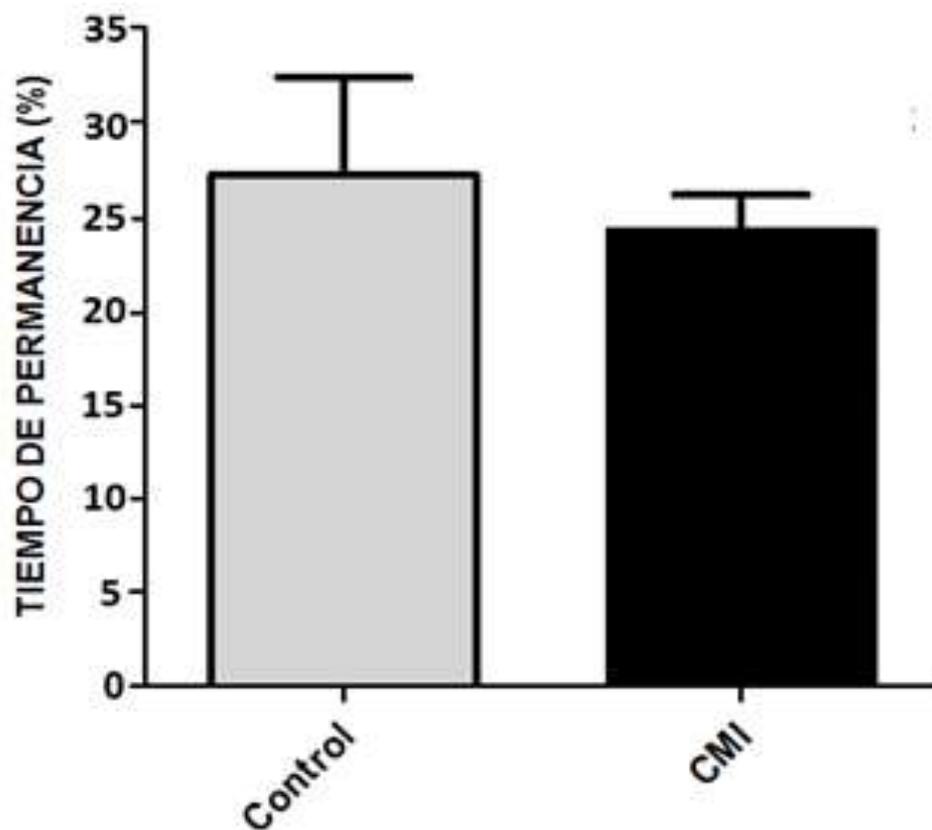


Figura 14. Efecto de la administración neonatal de CMI sobre % de tiempo de permanencia que presenta el animal en el cuadrante dónde se encontraba la plataforma después de retirarla en el día 7, del grupo control y el grupo CMI para llegar a la plataforma durante la PLM. En el grupo tratado neonatalmente con CMI se observa que no hay diferencias significativas, $n = 6$, $\text{media} \pm \text{E.E.}$ * $p < 0.05$.

9.1.2 Evaluación de la expresión de BDNF y los receptores 5HT1A y 5HT2A en hipocampo de ratas tratadas con CMI

Los resultados en la expresión del receptor 5HT1A se observan en la figura 15. El tratamiento con CMI provoca un incremento en la expresión relativa del ARNm para el receptor 5HT1A en hipocampo ($p < 0.05$).

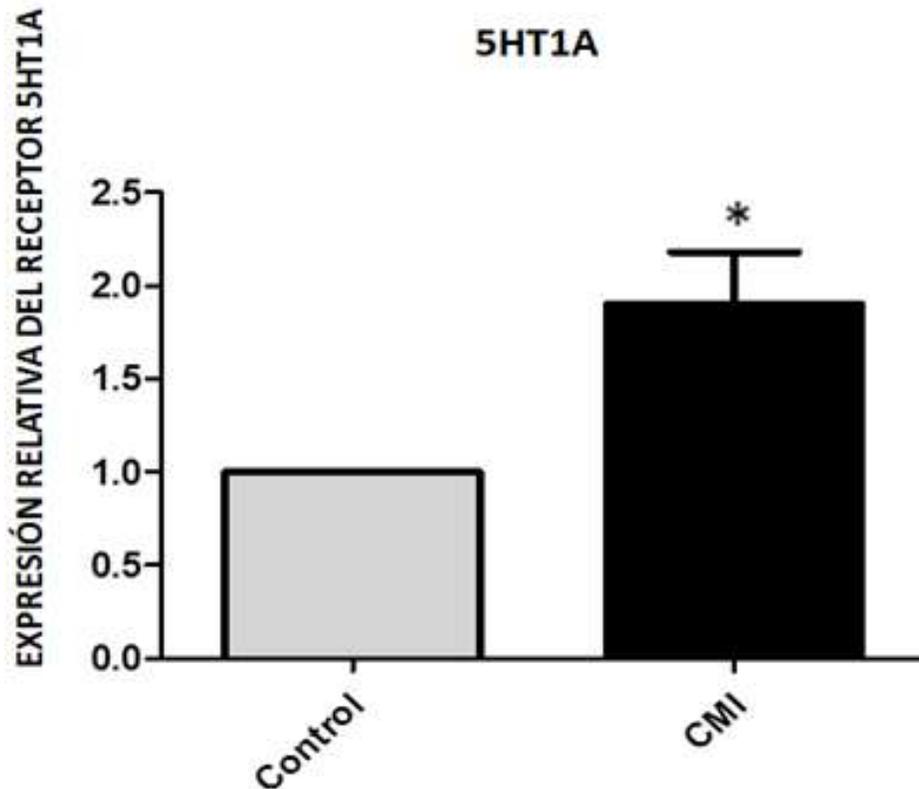


Figura 15. Niveles de expresión relativa del ARNm para el receptor 5HT1A (veces de cambio vs control) en hipocampo de ratas Wistar macho en el tratamiento con CMI, control y clomipramina (CMI). Se observa que en el modelo de depresión inducido con CMI produce un aumento en la expresión de ARNm del receptor 5-HT1A. $n=6$, media \pm E.E. * $p<0.05$ vs CTRL.

Los resultados en la expresión del ARNm para el receptor 5HT2A se observan en la figura 16. El grupo tratado con CMI muestra una disminución en la expresión relativa de este receptor ($p<0.05$) comparada con el grupo tratado con solución salina.

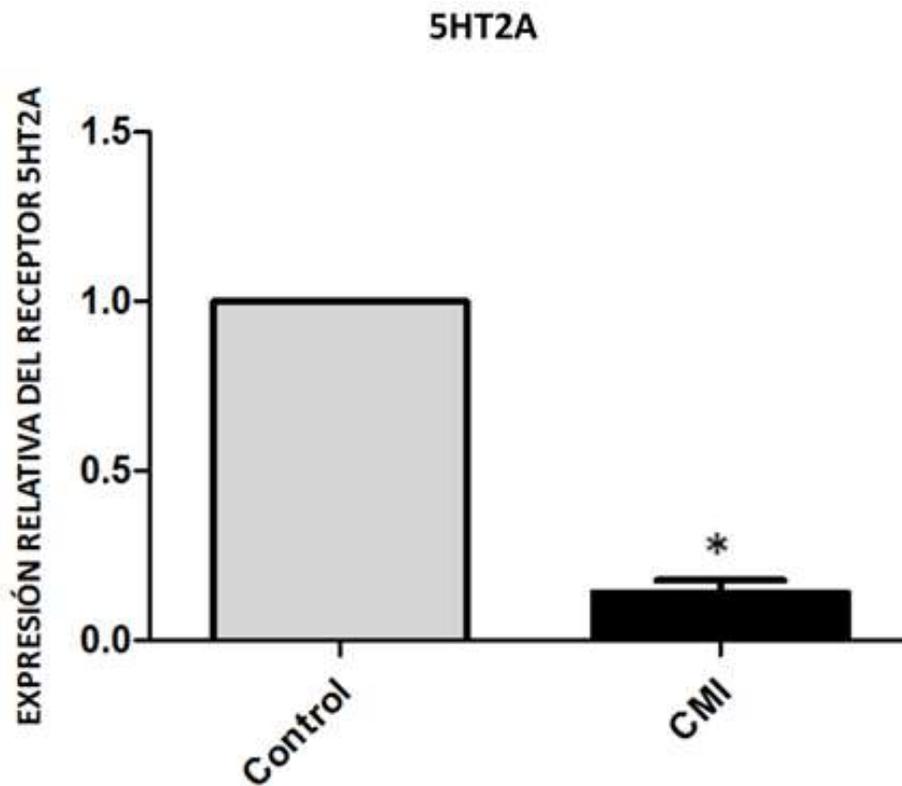


Figura 16. Expresión del receptor 5HT2A (veces de cambio vs control) en hipocampo de ratas Wistar macho en el tratamiento con CMI y control. Se observa que en el modelo de depresión inducido con CMI produce una disminución en la expresión de ARNm del receptor 5HT2A. n=6 Media \pm E.E. * $p < 0.05$ vs control.

En la figura 17 se presenta la expresión relativa del ARNm para BDNF de ratas tratadas con CMI. Se observa que el tratamiento con CMI provoca una disminución de la expresión de BDNF en hipocampo en comparación del grupo control ($p < 0.05$).

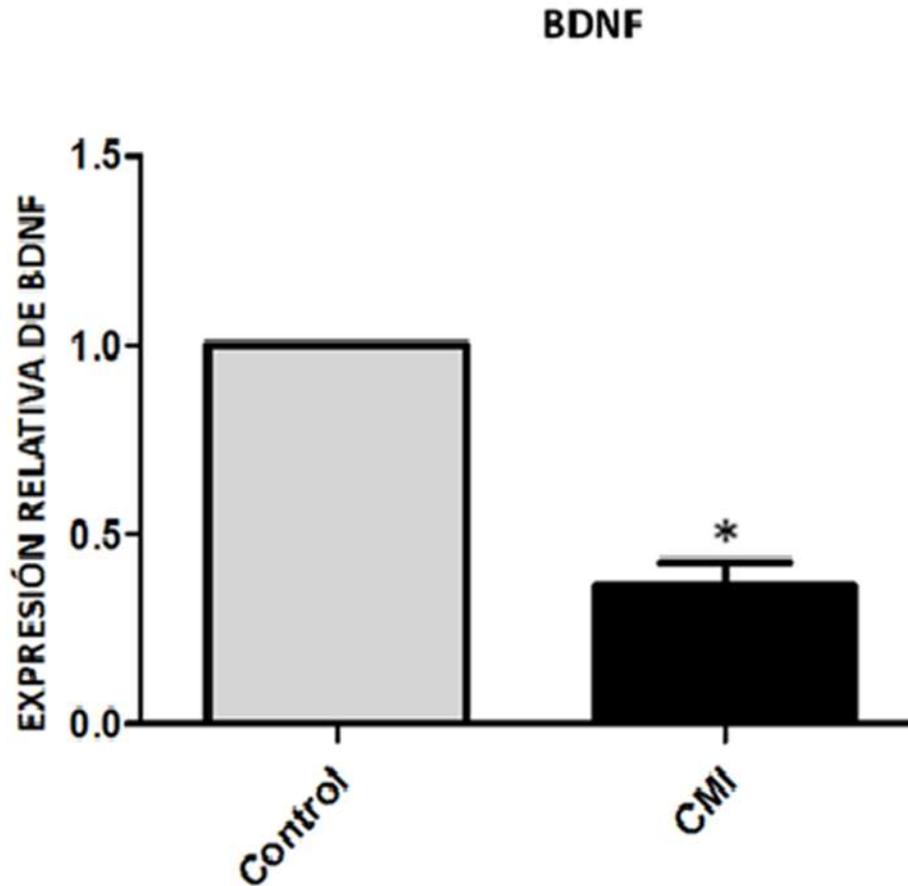


Figura 17. Expresión de BDNF (veces de cambio vs control) en hipocampo de ratas Wistar macho en el tratamiento con CMI, control. Se observa que en el modelo de depresión inducido con CMI produce una disminución en la expresión de ARNm para BDNF. n=6 Media \pm E.E. * $p < 0.05$ vs CTRL.

10. DISCUSIÓN

10.1.1 Depresión y memoria espacial

La depresión en mujeres durante el embarazo y posparto es muy frecuente, por lo que las que no responden a la terapia psicológica en la gestación deben recurrir a ISRS, debido a que no ocasionan efectos teratógenos, aunque su uso es controversial, debido a que la madre pasa por estadios que comprometen la vida y el desarrollo del recién nacido. Aunque en este estado se debe disminuir el uso de psicofármacos y algunos de estos están contraindicados, muchas veces se recurre a ellos por el hecho de que la enfermedad puede tener por sí misma un riesgo mayor (Pawluski, 2012), por lo tanto, el feto en desarrollo está expuesto a este tipo de compuestos en estas pacientes.

Para estudiar ésta condición se recurre a modelos animales como el modelo neonatal de depresión inducido por CMI en ratas Wistar macho, en el cual se sabe que la administración CMI provoca alteraciones en el sistema serotoninérgico (Feenstra et al., 1996; Vijayakumar y Meti 1999), esto permite evaluar los efectos en las modificaciones de las concentraciones de 5HT durante una etapa crítica en el neurodesarrollo como la lactancia, provocando la desregulación en la homeóstasis de ésta amina, lo cual afecta a largo plazo la expresión de sus receptores, también reflejado en la conducta del animal. El modelo de depresión es evaluado en la etapa adulta, presentando cambios similares en las alteraciones conductuales semejantes a la depresión en humanos, como disminución de la conducta sexual, disminución en la ingesta de sacarosa (anhedonia), aumento de la actividad motriz, entre otras.

Los resultados de este trabajo de investigación sugieren que la administración de CMI en la etapa neonatal produce cambios en la neurotransmisión serotoninérgica y la producción de neurotrofinas en hipocampo provocando alteraciones a largo plazo en la memoria espacial en la edad adulta.

Nuestros resultados revelan que durante la etapa de entrenamiento el grupo control logró identificar cada vez más rápido la plataforma, disminuyendo la latencia de escape con respecto a los días en comparación con el grupo CMI, el cual encuentra la plataforma siempre en un tiempo mayor. Así mismo, el grupo tratado con CMI recorrió una mayor distancia para encontrar la plataforma con respecto al control, durante todos los días de entrenamiento.

A este respecto se sabe que pacientes con depresión presentan déficit de memoria y dificultad para toma de decisiones (Trivedi *et al.*, 2004) lo cual le da mayor validez de apariencia al modelo. Así también, otros modelos de depresión como las ratas Wistar Kyoto muestran déficit cognitivo (Kyeremanteng *et al.*, 2014). Por otro lado, se ha encontrado que la exposición perinatal a fluoxetina, un ISRS, mejora la memoria espacial (Kiryanova y Dyck, 2014), lo cual no concuerda con lo observado en el presente estudio, esto podría deberse a que en el caso de la CMI uno de sus metabolitos actúa sobre el sistema noradrenérgico, por lo que esta discrepancia podría deberse al efecto sumatorio de alterar ambos sistemas durante etapas críticas del neurodesarrollo, además de que se sabe que ambos sistemas están implicados en esta patología según la teoría monoaminérgica.

La prueba del LAM puede denotar alteraciones en la capacidad cognitiva dependiente de hipocampo. El hipocampo es una estructura implicada en la consolidación de la memoria y el aprendizaje, por lo que si estas funciones están siendo alteradas por la administración del fármaco se observará en la prueba como una disminución del desempeño, y se denotará en un incremento en el tiempo y la distancia recorrida por el animal para ubicar la plataforma, encontrado en los animales tratados con CMI. A este respecto, se ha reportado que, en pacientes depresivos el deterioro cognitivo se acompaña de anomalías estructurales en hipocampo y corteza prefrontal (Trivedi *et al.*, 2014) sin embargo en el modelo de depresión inducido con CMI no se han descrito anomalías en estructuras cerebrales, por lo que resulta de interés realizar análisis histológicos para verificarlo.

10.1.2 Receptores 5HT1A, 5HT2A en relación con la depresión y la memoria espacial

Se encontró un aumento en la expresión del receptor 5HT1A en hipocampo el cual indica que la administración de CMI induce alteraciones del sistema serotoninérgico durante el neurodesarrollo, que permanecen hasta la etapa adulta. Dichos resultados coinciden con lo descrito previamente en este modelo (Limón-Morales *et al.*, 2014). Se ha reportado que cuando hay un aumento de este receptor en regiones hipocampales se produce una disminución en la retención en la prueba de LAM (Garthe y Kempermann; 2013), lo que coincide con los resultados informados dado que se observó una disminución en el en el número de cruces en animales tratados con CMI, lo cual podría deberse a una disminución en la actividad el en hipocampo, proceso que se ha relacionado con la liberación de glutamato en la región de CA1 de hipocampo y mejora de la memoria (Zhang *et al.*, 2018).

Por otro lado, se sabe que en individuos adultos el tratamiento crónico con otros ISRS como citalopram produce un incremento en el número de los receptores 5HT1A en giro dentado del hipocampo de un modelo de depresión generado por estrés (Wang *et al.*, 2009), lo cual podría explicar el aumento en la expresión de este receptor que permanece hasta la edad adulta. Por otro lado, se sabe que durante las tres primeras semanas de vida posnatal se da un pico de expresión de los diferentes receptores serotoninérgicos en diferentes áreas y esta variación en las densidades de algunos receptores serotoninérgicos resulta en diferentes acciones de la 5HT en el SNC. Durante el desarrollo, se dan cambios en la expresión de estos receptores y en el caso del 5HT1A se da un incremento progresivo en expresión en hipocampo llegando a los niveles de un adulto alrededor de la tercera semana de vida posnatal (Daval *et al.*, 1987), periodo que coincide con la administración de CMI. La administración de CMI durante el periodo crítico de expresión de los receptores serotoninérgicos, afecta la maduración y señalización de 5HT lo que repercute en cambios en la expresión del receptor 5HT1A.

Se sabe que los receptores 5HT1A en la glía influyen sobre el neurodesarrollo, ya que estimulan la liberación del factor neurotrófico S-100 β , que modula la diferenciación de neuronas neocorticales y serotoninérgicas (Whitaker-Azmitia, 1991). Por lo que manipulaciones de este sistema de neurotransmisión en periodos críticos provoca deficiencias en el crecimiento neuronal, la sinaptogénesis y la maduración de otros sistemas de neurotransmisión, lo cual desemboca en cambios en la conducta de la rata adulta (Whitaker-Azmitia y Azmitia, 1986; Whitaker-Azmitia, 1991).

Los resultados presentados revelan que el grupo tratado con CMI presenta una disminución en la expresión del ARNm para el receptor 5-HT2A. Este receptor participa en procesos de memoria y aprendizaje, generalmente es aceptado que sustancias antagonistas y/o alteraciones en su expresión, ya sea por su sobreexpresión o deficiencia, generan alteraciones en la memoria y el aprendizaje (Luna-Munguia *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2015), lo cual sustenta la evidencia de que los cambios sobre los dos receptores serotoninérgicos analizados en el presente estudio desembocan en un deterioro de la memoria espacial.

La activación de los receptores 5HT2A del hipocampo mejora la memoria de consolidación de los objetos sin afectar la codificación (Carine *et al.*, 2017). Esto se debe a que se ha descrito que la activación del receptor 5HT2A modula procesos en la memoria y actividades cognitivas, las cuales están relacionadas con aumento en la salida de glutamato derivado del incremento en el impulso eléctrico en neuronas piramidales de CA1 del hipocampo (Zhang *et al.*, 2016). Además, en ratones 5HT2A *-/-* se observa un déficit de memoria asociativa (Carine *et al.*, 2017).

Por otro lado, la disminución en la expresión de este receptor coincide con lo descrito en pacientes depresivos (Arango *et al.*, 1995), lo cual le da sustento de apariencia en este modelo con los signos que se presentan, además presenta la sintomatología mencionada con respecto al sustrato neurobiológico.

Durante el desarrollo tardío este receptor se encuentra ampliamente expresado en el hipocampo, por lo se piensa que está implicado en procesos de maduración dendrítica y diferenciación neuronal, además; está involucrado en la modulación de la expresión de BDNF en la neocorteza y el hipocampo modulando algunos procesos de desarrollo (Gaspar *et al.*, 2003) por lo que al afectarse su expresión en etapas tempranas muy posiblemente se afectó de forma permanente su señalización a nivel hipocampal.

10.1.3 BDNF

Los resultados revelan una disminución en la expresión de BDNF en hipocampo de ratas CMI con respecto al grupo control, lo que podría indicar su participación en mecanismos de depresión de acuerdo con la teoría neurotrófica. La teoría neurotrófica de la DM menciona que puede deberse a la atrofia neuronal, esto se debe a una disminución de la expresión de esta neurotrofina (Martinowich *et al.*, 2007; Philips *et al.*, 2017; Lindholm y Castrén, 2014). A este respecto, se ha informado en la literatura que en estudios *post-mortem* aportan evidencia del mecanismo neurotrófico, pues se ha observado una menor expresión del BDNF y de su receptor TrkB en el hipocampo y CPF de pacientes víctimas de suicidio por DM, con respecto a individuos sin este padecimiento psiquiátrico al momento del deceso (Chen *et al.*, 2001; Dwivedi *et al.*, 2003). Además, se ha descrito que pacientes con DM bajo tratamiento farmacológico presentan un incremento en la expresión del BDNF en el hipocampo, en comparación con pacientes sin tratamiento (Chen *et al.*, 2001; Lindholm y Castrén, 2014; Karege *et al.*, 2005; Monteleone *et al.*, 2008; Sen *et al.*, 2008), lo cuál sería consistente con la hipótesis neurotrófica.

El BDNF juega un papel importante en mecanismos de aprendizaje y memoria, se ha demostrado mediante ratones *knock out* para esta neurotrofina que la falta de este factor se relaciona con deterioro de la memoria espacial (Ernfors *et al.*, Erickson *et al.*, 2011) 1994). Lo cual explica en parte el deterioro cognitivo observado en las ratas tratadas con CMI y su relación con bajos niveles de expresión de BDNF en hipocampo. Además, es necesario para la neurogénesis, el

mantenimiento de la función neuronal y la integridad estructural de las neuronas (Duman *et al.*, 2001, Duman, 2002), en ratones *knock out* para BDNF se produce una disminución significativa de la arborización dendrítica en neuronas corticales y del hipocampo (Gorski *et al.*, 2003; Rauskolb *et al.*, 2010). Como se mencionó anteriormente esta neurotrofina participa en procesos de plasticidad sináptica, ya que el incremento en su concentración local se ha propuesto como mecanismo principal en la regulación del procesamiento de la información en el hipocampo (Aicardi *et al.*, 2004). Se ha informado que BDNF junto con NGF son responsables de los cambios en la citoarquitectura y de la reparación neuronal, aumentando la producción de nuevos brotes terminales y estimulando la sinaptógenesis. La disminución en la producción de los factores protectores neuronales ocasiona atrofia y muerte de las células de la capa CA3 y CA1 de las células musgosas (Schildt *et al.*, 2013; Korte *et al.*, 1995), regiones del hipocampo asociadas con la memoria espacial. Dado que en este estudio se observa una disminución de este factor y esta tiene como consecuencia un menor aprendizaje en la fase de entrenamiento y disminución de la retención en la memoria espacial, sería prudente realizar estudios que indiquen si hay cambios en la morfología o en la conectividad de las neuronas hipocampales.

La correcta expresión y señalización de BDNF produce la elevación de concentraciones de calcio y la activación de síntesis proteica (Yamada *et al.*, 2002). Posiblemente por el incremento en la liberación de glutamato derivada de la activación del receptor 5HT2A (Zhang *et al.*, 2018) ya que, como se mencionó con anterioridad este receptor está involucrado en la modulación de la expresión de BDNF en la neocorteza y el hipocampo (Gaspar *et al.*, 2003), por lo que alteraciones en la expresión del receptor 5HT2A podrían estar impactando en la expresión de BDNF y en conjunto ocasionar el déficit cognitivo observado.

BDNF es conocido por participar en procesos de plasticidad sináptica y tiene un papel crítico en el desarrollo cerebral y durante la etapa adulta (Thoenen, 1995). Existen reportes donde se relaciona a este factor neurotrófico con el neurodesarrollo, por ejemplo; existe la hipótesis de que el trastorno de déficit de

atención e hiperactividad se presenta por deficiencias en BDNF durante el neurodesarrollo en etapa fetal (Leibrock *et al.*, 1989; Conner *et al.*, 2008). La expresión de este factor puede conducir a la diferenciación neuronal, dependiendo de si las células expresan los receptores de noradrenalina o 5HT apropiados. Por lo que alteraciones en esta señalización en una etapa en donde se están estableciendo conexiones importantes puede repercutir en el desarrollo del individuo adulto y ser permanentes como en este caso.

11. CONCLUSIONES

Este estudio indica que el tratamiento neonatal con CMI, un ISRS, disminuye la expresión de BDNF y el receptor 5HT_{2A}, por otro lado, genera un aumento en la expresión del receptor 5HT_{1A} en el hipocampo, esto relacionado con un déficit en la memoria espacial inducido en el modelo neonatal por la manipulación del sistema serotoninérgico. Estas alteraciones en sistema serotoninérgico, son consecuencia de la modificación de los niveles de 5HT por la administración de CMI. 5HT durante el neurodesarrollo funciona como una neurotrofina y depende de esta amina para diferentes funciones como: diferenciación, poda neuronal, activación de factores de crecimiento, por lo que al modificar sus niveles en una etapa crítica del desarrollo podría provocar alteraciones a largo plazo en otros sistemas. Así mismo, en humanos la exposición a ISRS durante el neurodesarrollo podría provocar vulnerabilidad a sufrir trastornos depresivos en la edad adulta.

12. REFERENCIAS

- ❖ Abelaira, H.M, Reús, G.Z y Quevedo, J. (2013) Animal models as tolos to study the pathophysiology od depression . Revista Brasileira de psiquiatría, 35, 112-120
- ❖ Ables AZ, Nagubilli R . Prevención, diagnóstico y tratamiento del síndrome de serotonina. Soy médico de Fam. 2010; 81 (9): 1139- 1142.
- ❖ Aghajanian, G.K y Bloom, F.E (1967). The formation of siynaptic junctions in developing rat brain; a quantitative electronic microscopic study. Brain Research, 6, 716-727.
- ❖ Aghajanian GK y Marek GJ, 1999. Serotonin and hallucinogens. Neuropsychopharmacology 21, 16S-23S.
- ❖ Ahlskog J. E., Y. E. Geda, N. R. Graff-Radford, and R. C. Petersen, “Physical exercise as a preventive or diseasemodifying treatment of dementia and brain aging,” Mayo Clinic Proceedings, vol. 86, no. 9, pp. 876–884, 2011
- ❖ Aicardi G, Argilli E, Cappello S, Santi S, Riccio M, Thoenen H, Canossa M. (2004), Induction of long-term potentiation and depression is reflected by corresponding changes in secretion of endogenous brain-derived neurotrophic factor. Proc Natl Acad Sci U S A. 2;101(44):15788-92. Epub 2004 Oct 25.
- ❖ Alhaider, A. A., Ageel, A. M., Ginawi, O. T., 1993. The quipazine- and TFMPP-increased conditioned avoidance response in rats: role of 5HT1C/5-HT2 receptors. Neuropharmacology 32, 1427-1432.
- ❖ Andersen SL, Dumont NL, Teicher MH. Differences in behavior and monoamine laterality following neonatal clomipramine treatment. Dev Psychobiol 2002;41:50–7.
- ❖ APA (2000). Diagnostic and Statistic Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision (DSMIV-TR), (4a edn) Arlington VA: American Psychiatric Publishing, Inc.
- ❖ Arango V, Underwood MD, Boldrini M, Tamir H, Kassir SA, Hsiung S,et al. Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin

transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25:892–903.

- ❖ Arias R., Morales, M, Cifuentes F. Efecto de las neurotrofinas en la LTP del ganglio simpático de la rata, departamento de biología celular y fisiología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México, 2010
- ❖ Arranz MJ, Collier DA, Sodhi M, Ball D, Roberts G, Price J *et al.* Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT2A receptor gene. *Lancet* 1995; 346: 281-282
- ❖ Artigas F, Romero L, De Montigny C, Blier P. Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT1A antagonists. *Trends in Neurosciences* 1996; 19:378–83.
- ❖ Arvanov, V. L., Liang, X., Russo, A., Wang, R. Y., 1999. LSD and DOB: interaction with 5-HT2A receptors to inhibit NMDA receptor-mediated transmission in the rat prefrontal cortex. *Eur J Neurosci* 11, 3064-3072.
- ❖ Aydemir O, Deveci A, Taneli F. The effect of chronic antidepressant treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients: a preliminary study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29(2): 261-5.
- ❖ Azmitia EC, Gannon PJ, Kheck NM, Whitaker-Azmitia PM. Cellular localization of the 5-HT1A receptor in primate brain neurons and glial cells. *Neuropsychopharmacology* 1996; 14:35-46.
- ❖ Bear MF, Connors B, Paradiso M. 2008. Neuronas serotoninérgicas. En: *Neurociencia: la exploración del cerebro*. 3ª ed. Barcelona, España. Lippincott, Williams & Wilkins. pp. 146.
- ❖ Bécamel Carine, Berthoux Coralie, Barre Alexander, and Marine Philippe, Growing Evidence for Heterogeneous Synaptic Localization of 5-HT2A Receptors, DOI: 10.1021/acchemneuro.6b00409 *ACS Chem. Neurosci.* 2017, 8, 897–899
- ❖ Belik Jaques, Fetal and Neonatal Effects of Maternal Drug Treatment for Depression, *Semin Perinatol* 32:350-354 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

- ❖ Belló M, Puentes-Rosas E, Medina-Mora ME, Lozano R. Prevalencia y diagnóstico de depresión en población adulta en México. *Salud Pública Méx* 2005; 47(supl1): s4-s11.
- ❖ Belmaker RH, Agam G: Major depressive disorder. *N Engl J Med* 358: 55-68, 2008.
- ❖ Belzung, C. y Lemoine, M., (2011). Criteria of validity for animal models of psychiatric of disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Byology of Mood and Anxiety disorders*, 1, 1-9.
- ❖ Benjet C, Borges G, Medina-Mora ME, Fleiz-Bautista C, Zambrano-Ruiz J. 2004. La depresión con inicio temprano: prevalencia curso natural y latencia para buscar tratamiento. *Salud Publica México* 46: 417-424.
- ❖ Binder DK, Scharfman HE., Brain-derived neurotrophic factor. (2004) *Growth Factors*. 2004 Sep;22(3):123-31.
- ❖ Bonin A., y Levitt P. (2011) Fetal, maternal, and placental sources of serotonin and new implications for developmental programming of the brain, *Neuroscience*, 197, 10, 588-597.
- ❖ Bonilla Jaime, H., Retana Márquez, y Velázquez Moctezuma, J. (1998). Pharmacological features of masculine sexual behavior in animal model of depression. *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, 60, 39-45
- ❖ Bonilla Jaime, H., Retana Márquez, S., Arteaga.Silva, M., Hernández González, M., y Vázquez Palacios, G. (2010). Circadium activity of corticosterone in an animal model of depression; Response to muscarinic cholinergic stimulation. *Physiology and Behaviour*, 100, 311-315
- ❖
- ❖ Bonin A., y Levitt P. (2011) Fetal, maternal, and placental sources of serotonin and new implications for developmental programming of the brain, *Neuroscience*, 197, 10, 588-597.
- ❖ Brailowsky S. 1995. Las sustancias de los sueños: neuropsicofarmacología, 3ª edición, México, FCE/SEP/ CONACYT. pp. 80-84.

- ❖ Brunton Laurence L., Lazo John S., Parker Keith L. “Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica”. Doceava Edición. McGraw Hill. 2007.
- ❖ Burnet PW, Eastwood SL, Lacey K, Harrison PJ.(2005), The distribution of 5-HT1A and 5-HT2A receptor mRNA in human brain, *Brain Res.* 1995 Apr 3;676(1):157-68.
- ❖ Caetano SC, Fonseca M, Hatch JP, Olvera RL, Nicoletti M, Hunter K, Lafer B, Pliszka SR, Soares JC. Medial temporal lobe abnormalities in pediatric unipolar depression. *Neurosci Lett* 2007; 427(3): 142-7.
- ❖ Campbell S, MacQueen G. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *J Psychiatry Neurosci* 2004; 29:417-426.
- ❖ Carlson NR. 2004. *Fisiología de la conducta*. 8ª ed. Ed. Pearson-Adison Wesley pp. 758.
- ❖ Castrén Eero, (2004). Neurotrophic effects of antidepressant drugs. *Current Opinion in Pharmacology* 2004, 4:58–64
- ❖ Celada P, Puig MV, Casanovas JM, Guillazo G, Artigas F. Control of dorsal raphe serotonergic neurons by the medial prefrontal cortex: Involvement of serotonin-1A, GABA(A), and glutamate receptors. *Journal of Neuroscience* 2001; 21:9917–29.
- ❖ Chavez- Leon, Enrique; Ontiveros Uribe, Martha Patricia y Serrano Gomez, Carlos. Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISR-5HT). *Salud Ment* [online]. 2008, vol.31, n.4, pp.307-319. ISSN 0185-3325.
- ❖ Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang J-F et al. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 2001; 50:260-265.
- ❖ Chen H, Zhang L, Rubinow DR, Chuang DM.(1995) Chronic buspirone treatment differentially regulates 5-HT1A and 5-HT2A receptor mRNA and binding sites in various regions of the rat hippocampus, *Brain Res Mol Brain Res*.32(2):348-53.

- ❖ Cooper WO, Willy ME, Pont SJ, Ray WA., Increasing use of antidepressants in pregnancy, *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Jun;196(6):544.e1-5.
- ❖ Cruzblanca Hernández Humberto, Lupercio Coronel Patricia, Collas Aguilar Jorge, Castro Rodríguez Elena, *Neurobiología de la depresión mayor y de su tratamiento farmacológico*, *Salud Mental* 2016;39(1):47-58 ISSN: 0185-3325, DOI: 10.17711/SM.0185-3325.2015.067
- ❖ Cryan JF, Markou A, Lucki I. (2002), Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci.* 2002 May;23(5):238-45.
- ❖ Czéh, B., Fuchs, E., Wiborg, O., Simon, M. (2016). Animal models major of depression and their clinical implications. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 4, 293-310
- ❖ Daselaar SM , Fleck MS , Dobbins IG , Madden DJ , Cabeza R , (2006), Efectos del envejecimiento saludable en las funciones de la memoria rhinal y del hipocampo: un estudio fMRI relacionado con eventos. *Cereb Cortex.* 2006 Dec; 16 (12): 1771-82.
- ❖ Daval G, Vergé D, Becerril A, Gozlan H, Spampinato U, Hamon M. (1987). Transient expression of 5-HT_{1A} receptor binding sites in some areas of the rat CNS during postnatal development. *Int J Dev Neurosci.* 1987;5(3):171-80.
- ❖ De Montigny C, Blier P, Chaput Y. Electrophysiologically-identified serotonin receptors in the rat CNS. Effect of antidepressant treatment. *Neuropharmacology* 1984;23:1511–20
- ❖ DiPietro JA, Hodgson DM, Costigan KA, et al. 1996. Fetal antecedents of infant temperament. *Child Dev* 67:2568–2583.
- ❖ DiPiro Joseph, Talbert Robert, Yee Garn, Matzke Gary, Wells Barbara, Posey Michael. “Pharmacotherapy. A Pathophysiologic Approach “. Sixth Edition. McGraw Hill. 2005.

- ❖ Drevets WC, Thase ME, Moses-Kolko EL, Price J, Frank E, Kupfer DJ, Mathis C. 2007. Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl Med Biol* 34: 865-877.
- ❖ Du I, Bakish D, Lapierre YD, Ravindran AV, Hrdina, PD. Association of polymorphism of serotonin 2A receptor gene with suicidal ideation in major depressive disorder. *Am J Med Genet* 2000; 96: 56-60.
- ❖ Duman CH. 2010. Models of depression. En: *Vitamins and Hormones, Hormones of the Limbic system*. Ed. Elsevier Inc. Vol. 81, pp 1-21.
- ❖ Duman RS, Nakagawa S, Malberg J et al. 2001. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology*; 25(6): 836-44.
- ❖ Duman RS, 2002. Synaptic plasticity and mood disorders. *Mol Psychiatry*; 7(Suppl 1): S29-34.
- ❖ Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC *et al.* Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60:804-815.
- ❖ Eichenbaum H y Cohen, NJ, 2014. "Can we reconcile the declarative memory and spatial navigation views on hippocampal function?" *Neuron* 83(4): 764-770.
- ❖ Enoch MS, Goldman D, Barnett R, Sher I, Mazzanti CM, Rosenthal NE. Association between seasonal affective disorder and the 5-HT2A promoter polymorphism, - 1438G/A. *Mol Psychiatry* 1998; 4: 89-92. 43.
- ❖ Erickson K. I., M. W. Voss, R. S. Prakash et al., "Exercise training increases size of hippocampus and improves memory," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, no. 7, pp. 3017–3022, 2011.
- ❖ Ernfors P, Lee KF, Jaenisch R, Mice lacking brain-derived neurotrophic factor develop with sensory deficits. *Nature*. 1994 Mar 10; 368(6467):147-50.

- ❖ Escorihuela Rosa Ma., Fernández-Teruel Alberto, modelos animales en psicopatología y psicofarmacología: del análisis experimental de la conducta a la neurogenética, *Psicología Conductual*, Vol. 6, Nº 1, 1998, pp. 165-191
- ❖ Fañanas L, Genetic foundations of vulnerability to depression, ANALES Sis San Navarra 2016, Vol. 25, Suplemento 3, <https://www.researchgate.net/publication/277064387>
- ❖ Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. 1997. Principles of Neuropsychopharmacology. Sinauer Associates, Inc., Publishers. pp 345-389.
- ❖ Feenstra, M.G., Van Galen, H., Te Riele, J.M., Botterblom, M.H., Mirmiran, M. 1996. Decreased hypothalamic serotonin levels in adult rats treated neonatally with clomipramine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 55: 647-652.
- ❖ Garthe A., Kempermann G.(2003), An old test for new neurons:refining the Morris wáter maze to study the functional relevance of adult hippocampal neurogenesis, *Frontiers in neuroscience* doi: 10.3389/fnins.2013.00063
- ❖ Gaspar, P., et al (2003), The Developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nat. Neurosci.* 4, 1002-1012
- ❖ Geyer MA y Markou A. 1995. Animal models of psychiatric disorders. En *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. Bloom FE y Kupfer DJ eds, Raven Press pp. 787–798.
- ❖ Glennon RA, Dukat M, Westkaemper RB (1 de enero de 2000). «Serotonin Receptor Subtypes and Ligands». *American College of Neurophyscopharmacology*. Consultado el 11 de abril de 2008.
- ❖ Glover V. 2011. Annual research review: prenatal stress and the origins of psychopathology: an evolutionary perspective. *J Child Psychol Psychiatry* 52:356–367.

- ❖ Gorski JA, Zeiler SR, Tamowski S & Jones KR, 2003. Brain-derived neurotrophic factor is required for the maintenance of cortical dendrites. *J Neurosci*; 23: 6856-65
- ❖ Götz R, Köster R, Winkler C, Raulf F, Lottspeich F, Scharf M, et al. Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth family. *Nature* 2002; 372: 266-9.
- ❖ Hansson, S.R., Mezey y Hoffman, B.J (1998). Serotonine transport messenger RNA in the developing rat brain: early expression in non-serotonergic neurons. *Neuroscience*, 83, 1185-1201.
- ❖ Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 2004, 45: 104–114.
- ❖ Hensler JG. Regulation of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. *Life Sciences* 2003; 72:1665–82.
- ❖ Hensler JG. 2006. Serotonergic modulation of the limbic system. *Neurosci Biobehav Rev* 30:203–214.
- ❖ Hoyer D, Hannon JP, Martin GR, Molecular, pharmacological and functional diversity of 5HT receptors, *Pharmacol Biochem Behav.* 2002 Apr;71(4):533-54.
- ❖ Huang EJ, Reichardt LF (2003). "Receptores Trk: roles en la transducción de señales neuronales". *Annu. Rev. Biochem.* 72: 609-642. doi : 10.1146 /
- ❖ Hyman S.E. A glimmer of light for neuropsychiatric disorders. *Nature* 2008; 455:890-893
- ❖ Jans LA, Riedel WJ, Markus CR, Blokland A. 2006. Serotonergic vulnerability and depression: assumptions experimental evidence and implications. *Mol Psychiatry* 12(6): 522-543.
- ❖ Jadresic Enrique, M.DR.,(2014) Perinatal depression: Detection and treatment [Revista Médica Clínica Las Condes Volume 25, Issue 6](#), November 2014, Pages 1019-1028
- ❖

- ❖ Kandel RE, Schwartz HJ. 1991. Principles of neural science. 2a ed. Elsevier Science Publishing Co. pp 720-724.
- ❖ Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G, Los niveles bajos de factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el suero de pacientes deprimidos probablemente sean el resultado de la liberación de BDNF plaquetaria reducida no relacionada con la reactividad plaquetaria. Biol Psiquiatría. 2005 1 de mayo; 57 (9): 1068-72.
- ❖ Kepser, M.J, Angoa Pérez, M. Briggs, J.R (2015). The neurodevelopmental effects of serotonin: A behavioral perspective. Behavioral Brain Research, 277-13
- ❖ Kepser L.J., Homberg J.R. (2014). The neurodevelopmental effects of serotonin: A behavioural perspective, Behavioral Brain Research, 277-13.
- ❖ Kessels, R.P.S., de Haan, E.H.F. Kappelle, L. J y Postma A. (2001) Varieties of human spatial memory: a meta-analysis on the effects of hippocampal lesions. Brain Researches Reviews, 35, 295-303
- ❖ Kim J, Riggs KW, Misri S, et al. 2006. Stereoselective disposition of fluoxetine and norfluoxetine during pregnancy and breast-feeding. Br J Clin Pharmacol 61:155–163.
- ❖ Kiryanova V, Dyck RH. (2014) Increased aggression, improved spatial memory, and reduced anxiety-like behaviour in adult male mice exposed to fluoxetine early in life. Dev Neurosci. 2014;36(5):396-408. doi: 10.1159/000363102.
- ❖ Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H y Bonhoeffer, T (1995). "Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92(19): 8856-8860.
- ❖ Kyeremanteng C, MacKay JC, James JS, Kent P, Cayer C, Anisman H, Merali Z. (2014), Effects of electroconvulsive seizures on depression-related behavior, memory and neurochemical changes in Wistar and

Wistar-Kyoto rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.05.012.

- ❖ Lauder, J.M, (1990) Ontogeny of monoamine neurons of the locus coeruleus, Raphe nuclei and substantia nigra of the rat I. Cell differentiation. *Journal of Comparative Neurology*, 155, 469-481.
- ❖ Le Poul E, Boni C, Hanoun N, Laporte AM, Laaris N, Chauveau J, Hamon M, Lanfumey L. 2000. Differential adaptation of brain 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors and 5-HT transporter in rats treated chronically with fluoxetine. *Neuropharmacol* 39: 110-122.
- ❖ Leibrock J, Lottspeich F, Hohn A, Hofer M, Hengerer B, Masiakowski P, 1989. Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature*; 341: 149-52.
- ❖ Limón-Morales O., Molina-Jiménez T, Rojas-Castañeda JC, Arteaga-Silva M, Bonilla-Jaime H. 2017. "Psicobiología de la depresión: Aspectos conductuales y endocrinos de la administración neonatal con CMI" En: *Psicobiología conductual y cognitiva*. Medina Frago C, Hernández González M, Amezcua Gutiérrez C. Guevara Pérez MA. Ed. UNAM
- ❖ Limón-Morales, O., Soria-Fregozo, C., Arteaga-Silva, M., Hernández-González, M., Vázquez-Palacios, G., Bonilla-Jaime, H. 2014b. Hormone replacement with 17 β -estradiol plus dihydrotestosterone restores male sexual behavior in rats treated neonatally with clomipramine
- ❖ Li L, Ding J, Marshall C, Gao J, Hu G, Xiao M. Pretraining affects Morris water maze performance with different patterns between control and ovariectomized plus D-galactose-injected mice. *Behav Brain Res* 2011; 217:244–7.
- ❖ Li Q, Muma A, Van de Kar L. 1996. Chronic fluoxetine induces a gradual desensitization of 5-HT_{1A} receptors: reductions in hypothalamic and midbrain Gi and G₀ proteins and in neuroendocrine responses to 5-HT_{1A} agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 279: 1035-1042.
- ❖ Lin SY, Wu K, Levine ES, Mount HTJ, Suen PC, Black IB. BDNF acutely increases tyrosine phosphorylation of the NMDA receptor subunit 2B in

cortical and hippocampal postsynaptic densities. *Mol Brain Res* 1998; 55: 20-7.

- ❖ Lindholm JS, Castrén E. (2014) Mice with altered BDNF signaling as models for mood disorders and antidepressant effects. *Front Behav Neurosci.* 2014 Apr 30;8:143.
- ❖ Luna-Munguia H, Manuel-Apolinar L, Rocha L, Meneses A, 2005. 5-HT1A receptor expression during memory formation. *Psychopharmacology (Berlin)*; 181, 309–318.
- ❖ McGonigle, P., (2014) Animals models of CNS disorders. *Biochemical Pharmacology*, 87, 140-149.
- ❖ MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K et al. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:1387-1392
- ❖ Maeshima T, et al. Serotonin2A receptor-like immunoreactivity in rat cerebellar Purkinje cells. *Neurosci Lett.* 1998;252(1):72–74.
- ❖ Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000; 20:9104-9110.
- ❖ Malenka RC, Nestler EJ, Hyman SE (2009). "Capítulo 8: neurotransmisores atípicos". En Sydor A, Brown RY. *Neurofarmacología molecular: una base para la neurociencia clínica* (2ª ed.). Nueva York: McGraw-Hill Medical. pp. ISBN 9780071481274
- ❖ Malkesman, O, Braw, Y., Maayan, R. Welzman, A., Overstreet, D. H., Shabat-Simón, M. Kesner, Y.,. A two different putative genetic animal models of childhood depression, *Biol, Psychiat*, 59 17. 23 2006.
- ❖ Mamounas LA, Altar CA, Blue ME, Kaplan DR, Tessarollo L, Lyons WE. BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *J Neurosci* 2000; 20(2): 771-82.
- ❖ Manji HK, Drevets WC, Charney DS. 2001. The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine* 7(5): 541-547).

- ❖ Mann JJ, Malone KM, Nielsen DA, Goldman D, Erdos J, Gelernter J. Possible association of a polymorphism of the tryptophan hydroxylase gene with suicidal behaviour in depressed patients. *Am J Psychiatry* 1997; 154: 1451-1453.
- ❖ Martinowich K, Manji H, Lu B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature Neurosci* 2007; 10:1089-1093.
- ❖ Meyer JH, Ginovart N, Boovariwala A, Sagrati S et al. Elevated monoamine oxidase A levels in the brain. An explanation for the monoamine imbalance of major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2006; 63:1209- 1216.
- ❖ Meyer JH, Kapur S, Houle S, DaSilva J et al. Prefrontal cortex 5-HT2 receptors in depression: An [18F] setoperone PET imaging study. *Am J Psychiatry* 1999; 156:1029-1034
- ❖ Middlemiss DN, Fozard JR. 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralindiscriminates between subtypes of the 5-HT1 recognition site. *EuropeanJournal of Pharmacology* 1983; 90:151–3.
- ❖ Mill J, Petronis A. Molecular studies of major depressive disorder: the epigenetic perspective. *Mol Psychiatry* 2007; 12:799-814Murray CJ, Lopez AD. Evidence-based health policy-lessons from the global burden of disease. *Science* 1996; 274:740-743.
- ❖ Mintun MA, Sheline YI, Moerlein SM, Vlassenko AG, Huang Y, Snyder AZ.,Decreased hippocampal 5-HT2A receptor binding in major depressive disorder: in vivo measurement with [18F]altanserin positron emission tomography. *Biol Psychiatry*. 2004 Feb 1;55(3):217-24.
- ❖ Monteleone P, Serritella C, Martiadis V, Maj M, Disminución de los niveles de factor neurotrófico derivado del cerebro sérico tanto en pacientes deprimidos como eutímicos con depresión unipolar y en pacientes eutímicos con trastornos bipolares I y II. *Disord Bipolar*. 2008 feb; 10 (1): 95-100.

- ❖ Moreno, J. L., Holloway, T., and Gonzalez-Maeso, J. (2013) G protein-coupled receptor heterocomplexes in neuropsychiatric disorders. *Prog. Mol. Biol. Transl Sci.* 117, 187–205.
- ❖ Moses-Kolko EL, Bogen D, Perel J, et al: Neonatal signs after late in utero exposure to serotonin reuptake inhibitors: literature review and implications for clinical applications. *JAMA* 293:2372-2383, 2005
- ❖ Mowla, S.J. et al. Differential sorting of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 19, 2069–2080 (1999).
- ❖ Murray L, Hipwell A, Hooper R, Stein A, Cooper P, The cognitive development of 5-year-old children of postnatally depressed mothers, *J Child Psychol Psychiatry.* 1996 Nov;37(8):927-35.
- ❖ Naghdi N , Harooni HE . The effect of intrahippocampal injections of ritanserin (5HT_{2A/2C} antagonist) and granisetron (5HT₃ antagonist) on learning as assessed in the spatial version of the water maze, *Behav Brain Res.* 157 (2): 205-10.
- ❖ Neill, D., G. Hagler, M., KorsD., y Hennessey, A., (1990) Diminished Sexual activity a new animal model of endogenous depression. *Neurosciences and Behavioural Reviews*, 14, 73-76.
- ❖ Nestler E., Hyman, Malenka R., 2001, Mood and emotion, Chapters 8, 9 y 15, *Molecular Neuropharmacology*, USA, Mc Graw Hill.
- ❖ Nilsson AS, Fainzilber M, Falck P, Ibañez CF. Neurotrophin-7 a novel member of the neurotrophin family from the zebrafish. *FEBS Lett* 1998; 13: 285-90
- ❖ Nic Dhonnchadha, B. A., Cunningham, K. A., 2008. Serotonergic mechanisms in addiction-related memories. *Behav Brain Res* 195, 39-53.
- ❖ Norrholm SD, Quimet CC. Altered dendritic spine density in animal models of depression and in response to antidepressant treatment. *Synapse* 2001; 42:151-163.

- ❖ Olza F. Ibone; Serrano d. Elena; Muñoz L. Carmen (2011), Lactancia para psiquiatras: Recomendaciones sobre el empleo de psicofármacos en madres lactantes, Archivos de Psiquiatría. 2011; 74:2 (23-mayo-2011)
- ❖ Oberlander TF, Eckstein GR, Fitzgerald C, et al. 2002. Prolonged prenatal psychotropic medication exposure alters neonatal acute pain response. *Pediatr Res* 51:443–453.
- ❖ Oberlander TF, Warburton W, Misri S, Aghajanian J, Hertzman C., Neonatal outcomes after prenatal exposure to selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants and maternal depression using population-based linked health data.
- ❖ Osterlund MK. 2010. Underlying mechanisms mediating the antidepressant effects of estrogens. *Biochim Biophys Acta* 1800 (10): 1136-1144
- ❖ OMS, 2017 <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/depression>, publicada el 22 de marzo del 2018, consultada el 15 de mayo del 2018.
- ❖ OMIM:
Depresión, <http://omim.org/entry/608516?search=depression&highlight=depression#23>, consultado en mayo 2018
- ❖ Pawluski JL., (2012). Perinatal Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Exposure: Impacto on brain development and neural plasticity. *Neuroendocrinology*; 95:39-46
- ❖ Pazos A, Cortes R, & Palacios JM, 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res*; 346, 231-249.
- ❖ Pearce, J.M., Roberts, A.D.L. y Good, M. (1998) Hippocampal lesions disrupt a cognitive map but not vector encoding. *Nature*, 396, 75-77.
- ❖ Phelps EA, 2004. "Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex." *Curr Opin Neurobiol* 14(2): 198-202.

- ❖ Philips Cristy, brain-derived neurotrophic factor, depression, and physical activity: Making the Neuroplastic Connection, Hindawi Neural Plasticity Volume 2017, Article ID 7260130, 17 pages <https://doi.org/10.1155/2017/7260130>
- ❖ Prados, J. y Trobalon, J.B. (1998). Locating an invisible goal in a water maze requires at least two landmarks. *Psychobiology*, 26, 42-48.
- ❖ Pritchett DB, Bach AW, Wozny M, Taleb O, Dal Toso R, Shih JC & Seeburg PH, 1988. Structure and functional expression of cloned rat serotonin 5HT2 receptor. *EMBO J* 7, 4135-4140.
- ❖ Psicofarmacología, 2018: <http://psicofarmacologia.com/receptores-en-snc/receptores-5-ht1a-en-psicofarmacologia>
- ❖ Puig MV, Celada P, Artigas F. Control serotoninérgico de la corteza prefrontal. *Rev Neurol* 2004; 39:539-547.
- ❖ Raote Ishier, Bhattacharya Aditi, and Mitradas M. Panicker, Serotonin 2A (5-HT_{2A}) Receptor Function: Ligand-Dependent Mechanisms and Pathways, Chapter 6, Serotonin receptors in neurobiology, 2007, ISBN-13: 978-0-8493-3977-6
- ❖ Rausch JL, Johnson ME, Kasik KE, Stahl SM. 2006. Temperature regulation in depression: functional 5HT1A receptor adaptation differentiates antidepressant response. *Neuropsychopharmacol* 6(31): 2274-2280.
- ❖ Rauskolb S, Zagrebelsky M, Dreznjak A, Deogracias R, Matsumoto T, 2010. Global deprivation of brain-derived neurotrophic factor in the CNS reveals an area-specific requirement for dendritic growth. *J Neurosci* 30: 1739-49
- ❖ Rosenthal NE, Mazzanti CM, Barnett RL, Harding ta, Turner eh, Lam gk et al. Role of serotonin transporter promoter repeat length polymorphism (5-HTTLPR) in seasonality and seasonal affective disorder. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 175-177
- ❖ Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J. 2000. Brain serotonin1A receptor binding measured by positron emission

tomography with WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 57(2): 174-180.

- ❖ Savitz J, Lucki I, Drevets WC. 5-HT_{1A} receptor function in major depressive disorder. *Prog Neurobiol* 2009; 88:17-31.
- ❖ Schatzberg AF, Nemeroff CB. *The American Psychiatric Publishing Textbook of Psychopharmacology*, 4th Ed. Apr 2009, American Psychiatric Publishing Inc.
- ❖ Schildt, S., Endres, T., Lessmann, V y Edelmann, E (2013). "Acute and chronic interference with BDNF/TrkB-signaling impair LTP selectively at mossy fiber synapses in the CA3 region of mouse hippocampus." *Neuropharmacology* 71: 247-254.
- ❖ Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry*. 2008;64(6):527–32.
- ❖ Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH. Depression duration but no age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci* 1999; 19:5034-5043.
- ❖ Shirayama Y, Chen AC-H, Nakagawa S, Russell DS et al. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci* 2002; 22:3251-3261.
- ❖ Stahl SM. 2002. *Psicofarmacología esencial de la depresión y trastorno bipolar*. 1ª edición. Ed. Ciencias médicas. pp 192
- ❖ Stewart A, Maity B, Wunsch AM, Meng F et al. Regulator of G-protein signaling 6 (RGS6) promotes anxiety and depression by attenuating serotonin mediated activation of the 5-HT_{1A} receptor-adenylyl cyclase axis. *FASEB J* 2014;28:1735-1744.
- ❖ Sullivan GM, Oquendo MA, Huang YY, Mann JJ., Elevated cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid levels in women with comorbid depression and panic disorder., *Int J Neuropsychopharmacol*. 2006 Oct;9(5):547-56. Epub 2005 Nov 1

- ❖ Talge NM, Neal C, Glover V, et al. 2007. Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: how and why? *J ChildPsychol Psychiatry* 48:245–261.
- ❖ Thoenen H. Neurotrophins & neuronal plasticity. *Science* 1995; 270(5236): 593-8. Factor neurotrófico derivado del cerebro en el trastorno depresivo mayor Vol. 5 Número 1. Enero-Abril 2010 pp 19-21 www.medigraphic.org.mx nen, 1995.
- ❖ Trivedi, M.H., Rush, A.J., Ibrahim, H.M., Carmody, T.J., Biggs, M.M., Suppes, T., Crismon, M.L., Shores-Wilson, K., Toprac, M.G., Dennehy, E.B., Whitte, B., Kashner, T.M., 2004. The Inventory of Depressive Symptomatology, Clinician Rating (IDS-C) and Self-Report (IDS-SR), the Quick Inventory of Depressive Symptomatology, Clinician Rating (QIDS-C) and Self-Report (QIDS-SR) in public sector patients with mood disorders: a psychometric evaluation. *Psychological Medicine* 34, 73–82
- ❖ Tronick EZ, Weinberg MK. 1997. Depressed mothers and infants: failure to form dyadic states of consciousness. In: Murray L, Cooper PJ, editors. *Postpartum depression and child development*. New York: Guilford Press. pp. 54–81.
- ❖ Tyler WJ, Zhang X, Hartman K, Winterer J, Muller W, Stanton P, et al. BDNF increases release probability and the size of a rapidly recycling vesicle pool within rat hippocampal excitatory synapses. *J Physiol* 2006; 574: 787-803.
- ❖ Van de Kar LD. 1989. Neuroendocrine aspects of the serotonergic hypothesis of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 13: 237-246.
- ❖ Van der Staay FJ, Arnult SS, Nordquest, RE. Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders, *S 15 Cheaw Brain* 2009, pp11.
- ❖ Vasiliadis HM, Lesage A, Adair C, et al: Do Canada and the United States differ in prevalence of depression and utilization of services? *Psychiatr Serv* 58:63-71, 2007.
- ❖ Velazquez-Moctezuma J, Diaz Ruiz O., (1992). Neonatal treatment with clomipramine increased immobility in the forced swim test: an attribute of

animal models of depression, *Pharmacol Biochem Behav.* 1992 Aug;42(4):737-9.

- ❖ Verge D, Daval G, Patey A, Gozlan H, El Mestikawy S, Hamon M. Presynaptic 5-HT autoreceptors on serotonergic cell bodies and/or dendrites but not terminals are of the 5-HT_{1A} subtype. *European Journal of Pharmacology* 1985; 113:463–4.
- ❖ Verney, C., Lebrand, C., y Gaspar, P. Changing distribution of monoaminergic markers in the developing human cerebral cortex with especial emphasis on the serotonin transporter. *The Anatomical Record*, 267, 87-93.
- ❖ Vicens P., Redolat R., Carrasco C., 2003. Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. Universitat Rovira i Virgili. Facultat de Ciències y Psicologia
- ❖ Vijayakumar M. Meti BL. Alterations in the levels of monoamines in discrete brain regions of clomipramine-induced animal model of endogenous depression. *Neurochem Res* 1999; 24:345-9
- ❖ Vogel G, Neill D, Hagler M, et al. 1990. A new animal model of endogenous depression: a summary of present findings. *Neurosci Biobehav Rev* 14:85–91.
- ❖ Wang RY, Aghajanian GK. Antidromically identified serotonergic neurons in the rat midbrain raphe: Evidence for collateral inhibition. *Brain Research* 1977; 132:186–93.
- ❖ Wang RZ, Vashista V, Kaur S, et al. Síndrome serotoninérgico: prevenirlo, reconocerlo y tratarlo. *Cleve Clin J Med.* 2016; 83 (11): 810-817.
- ❖ Whitaker-Azmitia PM, Druse M, Walker P, et al. 1996. Serotonin as a developmental signal. *Behav Brain Res* 73:19–29.
- ❖ Williams, G., Rao, S. G., and Goldman-Rakic, P. S. (2002) The physiological role of the 5HT_{2A} receptors in working memory. *J. Neurosci.* 22, 2843-2854

- ❖ Willner P. Animal models of depression: validity and applications. *Adv Biochem Psychopharmacol* 1995; 49:19-41. <https://espanol.medscape.com/verarticulo/5900135>
- ❖ Willner, P., Mitchell, P.J., (2002) The validity of animal of predisposition to depression. *Behavioural Pharmacology*, 13, 169-188
- ❖ Wright DE, Seroogy KB, Lundgren KH, Davis BM, & Jennes L, 1995. Comparative localization of serotonin1A, 1C, and 2 receptor subtype mRNAs in rat brain. *J Comp Neurol* 351, 357-373.
- ❖ World Health Organization 2017, www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en
- ❖ Yamada MK, Mizuno M, Nabeshima T. Role of brain-derived neurotrophic factor in learning and memory. *Life Sci* 2002; 70: 735-44.
- ❖ Yan W, Wilson CC, Haring JH., (1997) 5-HT1A receptors mediate the neurotrophic effect of serotonin on developing dentate granule cells. *Brain Res Dev Brain Res*. 1997 Feb 20;98(2):185-90.
- ❖ Yatham LN, Liddle PF, Shiah I-S, Scarrow G et al. Brain serotonin 2 receptors in major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57:850-858.
- ❖ Yau JLW, Olsson T, Noble J, Seckl JR. 1999. Yau, *et al.*, 1999. Serotonin receptor subtype gene expression in the hippocampus of aged rats following chronic amitriptyline treatment. *Mol Brain Res* 70: 282-287.
- ❖ Zhang G, Cinalli D, Barrera MP, & Stackman RW, 2015. "Activation of serotonin 5-HT2A receptor delays the retrieval of spatial memory in a Morris- water maze task," in *Proceedings of the Society of Neuroscience Conference*, Chicago.
- ❖ Zhang, G., Cinalli, D., Cohen, S. J., Knapp, K. D., Rios, L. M., Martinez-Hernandez, J., Lujan, R., and Stackman, R. W., Jr. (2016) Examination of the hippocampal contribution to serotonin 5-HT2A receptor-mediated facilitation of object memory in C57BL/6J mice. *Neuropharmacology* 109, 332-340. (5) Vinals, X., Moreno, E., Lanfumey,

- ❖ Zhang X, Gainetdinov RR, Beaulieu J-M, Sotnikova TD et al. Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar depression. *Neuron* 2005; 45:11-16