



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)
INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA RAMÓN DE LA FUENTE MUÑOZ.
LABORATORIO DE NEUROGENESIS

**EFFECTO DE LA PIOGLITAZONA SOBRE LA NEUROGÉNESIS Y ESPINAS
DENDRÍTICAS EN RATONES HEMBRA DE LA CEPA BALB/C**

T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:
Bióloga Natalia Hernández Velasco

TUTOR PRINCIPAL
Dr. Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez
Adscrito a la Facultad de Psicología, UNAM

Miembros del Comité tutorial
Dra. Irma Yolanda del Río Portilla, Facultad de Psicología, UNAM
Dra. María del Carmen Miñana Solís, Facultad de Ciencias, UNAM
Dra. Nelly Maritza Vega Rivera, INPRFM
Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez, FES-Iztacala, UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

*“En presencia de la oscuridad total, la mente cree que es
absolutamente necesario crear luz.”
-Isaac Asimov*

A mi madre y hermano

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

- ❖ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por todo el apoyo brindado durante la maestría, sin el cual no hubiera sido posible la culminación de este trabajo (No. CVU 918882).
- ❖ Al Comité y coordinadores del posgrado Dra. Nuri Aranda López, Dra. Maricela Luna Muñóz y en sus inicios, M. En C. Leonor Casanova Rico por la atención, ayuda y seguimiento desde la sede en el Instituto de Neurobiología, Juriquilla, Qro.
- ❖ A mi sede de la maestría en la CDMX, Facultad de Psicología (C.U), por ofrecernos aulas y facilidades para llevar a cabo nuestras clases, prácticas y ponencias. Gracias Lic. Juan.
- ❖ Al Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muníz” por ser mi lugar de trabajo y formación en el camino de la investigación en Neurociencias durante estos dos años. Muchas gracias Srita. Liliana Soto. Estudiante con folio 568.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

- ☞ Al Dr. Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez, jefe del laboratorio de Neurogénesis en el INPRFM, excelente persona y tutor, agradezco su accesibilidad para integrarme a su equipo de investigación, su paciencia, múltiples enseñanzas, entusiasmo por la ciencia y apoyo incondicional. Agradezco haber llegado a su laboratorio y formarme en este lugar durante estos dos años. Muchas gracias
- ☞ Al Q.F.B. Leonardo Ortíz López por su grandísimo esfuerzo, constancia, amabilidad, disciplina, paciencia y amor por la ciencia. Agradezco sus enseñanzas y palabras que han dejado una gran impacto para mi formación como investigadora. Muchas gracias.
- ☞ A la Dra. Nelly Maritza Vega Rivera y Dr. Daniel Reyes Haro, por su paciencia, amabilidad y juicio crítico durante estos dos años de maestría. Agradezco sus enseñanzas y sugerencias para la culminación de este trabajo. Muchas gracias
- ☞ A la Dra. Edith Cabrera Muñóz por su pensamiento crítico y comentarios fructíferos, por su honestidad y sensatez, una excelente científica que procura defender siempre la verdad. Muchas gracias
- ☞ Al M.V.Z Arturo Cartillo Tovar, por ser una persona amable, respetuosa y accesible. Siempre procurando el laboratorio de Neurogénesis. Muchas gracias
- ☞ Al Comité Tutorial conformado por la Dra. Irma del Río Portilla, Dra. María del Carmen Miñana Solís y Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez. Agradezco sus comentarios, paciencia y accesibilidad para la conclusión de este trabajo. Muchas gracias también por sus enseñanzas, ya que tuve el honor de conocerlos a cada

uno durante mi grata formación académica. Excelentes personas e investigadores.
Muchas gracias

- ☞ A futuro doctor David Meneses San Juan, por ser ejemplo de esfuerzo, disciplina, carisma y responsabilidad necesarios para llegar a ser un excelente investigador. Agradezco sus enseñanzas desde la primera vez que llegué al laboratorio facilitando mi integración. Por supuesto que también por esas ideas ciberpunk que siempre nos dejan pensando. Muchas gracias
- ☞ A la Lic. Psic. Andrea Granados Juárez (y futura maestra en proceso), agradezco sus enseñanzas, altísima paciencia, amabilidad, amistad y recibirme cálidamente la primera vez. Siempre investigando, una científica imparable. Muchas gracias
- ☞ A mis compañeros del laboratorio de Neurogénesis: Lupita, Jorge, Eunice, Enrique, Vanessa, María Elisa y Stephanie. Porque todos seguimos una misma meta, trabajando en conjunto en el camino de las neurociencias.
- ☞ A mis compañeros de la maestría, los mejores deseos a ellos.

| | |
|--|------------|
| INDICE | |
| Índice de cuadros y figuras | I |
| Abreviaturas | II |
| Resumen | III |
| Abstract | IV |
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1. Generalidades: Anatomía del hipocampo | 1 |
| 1.1.2. Breve historia de la Neurogénesis | 1 |
| 1.1.3. ¿Qué es la Neurogénesis hipocampal? | 2 |
| 1.1.4. Proceso neurogénico | 2 |
| 1.1.5. Factores que intervienen en la neurogénesis | 4 |
| 1.1.6. Efecto ambiental, emocional y del aprendizaje | 5 |
| 1.1.7. Biomarcadores de la Neurogénesis | 6 |
| 1.2. Depresión | 8 |
| 1.2.1. Patología de la depresión | 9 |
| 1.2.2. Factores que contribuyen a la depresión | 10 |
| 1.2.3. Estrés y neurogénesis | 10 |
| 1.3. Modelos utilizados para evaluar conductas tipo depresivas.. | 12 |
| 1.3.1. Anridepresivos y neurogénesis | 12 |
| 1.4. Tiazolidinedionas (TZD) | 13 |
| 1.4.1. Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) | 13 |
| 1.4.2. Generalidades de la Pioglitazona | 15 |
| 1.4.3. Activación de los PPAR γ | 15 |
| 1.4.4. Inflamación y PPAR γ | 15 |
| 1.4.5. Pioglitazona en estudios clínicos y preclínicos..... | 17 |
| 2. Justificación | 18 |
| 3. Hipótesis | 19 |
| 4. Objetivo General | 19 |
| 4.1. Objetivos particulares | 19 |
| 5. Metodología | 19 |
| 5.1. Reactivos | 19 |
| 5.2. Sujetos experimentales | 20 |
| 6. Desarrollo experimental | 20 |
| 6.1. Experimentos in vivo | 20 |
| 6.1.1. Pruebas conductuales | 22 |
| 6.2. Tinción de Golgi-Cox | 24 |
| 6.3. Inmunohistoquímica (IH) | 24 |
| 6.3.1. Protocolo para DCX y Ki67 | 24 |

| | |
|--|----|
| 6.3.2. Protocolo para BrdU | 26 |
| 6.4. Microfotografías y procesamiento de imágenes | 26 |
| 7. Análisis estadístico | 26 |
| 8. Resultados | 27 |
| 8.1. Inmunohistoquímica (BrdU, Ki67 y DCX) y Golgi Cox | 27 |
| 8.2. Pruebas conductuales: ROTAROD, campo abierto, LON/RON, supresión de alimento y nado forzado | 31 |
| 9. Discusión | 36 |
| 10. Conclusión | 46 |
| 11. Referencias | 47 |

Indice de tablas y figuras

Tablas

- Tabla.1. Principales marcadores utilizados para el estudio de la neurogénesis hipocampal
- Tabla.2. Función biológica de las isoformas de PPAR.
- Tabla 3. Modelos experimentales utilizados en el evaluación de conductas tipo depresivas.
- Tabla 4. Grupos experimentales, vía de administración y duración.
- Tabla 5. Descripción de las pruebas conductuales.
- Tabla 6. Anticuerpos primarios y secundarios utilizados para las pruebas de inmunohistoquímica.

Figuras

- Figura 1. Diferenciación de los tipos celulares en el giro dentado durante el proceso neurogénico.
- Figura 2. Estructura y activación de los PPAR.
- Figura 3. Diseño experimental.
- Fig.4. Representación gráfica de las pruebas de a) ROTAROD, b) Campo abierto, c) Localización de objeto novedoso, d) reconocimiento de objeto novedoso y e) nado forzado.
- Figura. 5. La pioglitazona no modifica la supervivencia y proliferación en el giro dentado del hipocampo dado por los marcadores Ki67 y BrdU.
- Figura 6. Efecto de la pioglitazona en el marcador de neuronas inmaduras por DCX.
- Figura 7. La PGZ modifica las espinas dendríticas en el hipocampo.
- Figura 8. Prueba ROTAROD para evaluar locomoción.
- Figura 9. Prueba de campo abierto para evaluar ansiedad y locomoción.
- Figura 10. Prueba de localización de localización de novedoso.
- Figura 11. Prueba de reconocimiento de objeto novedoso.
- Fig. 12. Prueba de supresión de alimento.
- Fig. 13. Prueba de nado forzado (Porsolt Test).
- Fig. 14. Expresión de los PPARgamma en el giro dentado del hipocampo.

ABREVIATURAS

| | |
|--|--|
| HP Hipocampo | CP Células progenitoras |
| CP Complejo Hipocampal | SNC Sistema Nervioso Central |
| GD Giro dentado | SN Sistema Nervioso |
| NHA Neurogénesis hipocampal adulta | BHE Barrera hematoencéflica |
| NH Neurogénesis hipocampal | ATC Antidepresivos tricíclicos |
| ZSG Zona subgranular | SSRI Inhibidores de la recaptación de serotonina |
| ZSV Zona subventricular | AMPc Adenosín monofosfato cíclico |
| CRM Canal rostral migratorio | 5-HT Receptores de la serotonina/hidroxitriptamina |
| CGR Células de la glía radial | CREB Elementos de respuesta a AMPc |
| NSC Neural stem cells/ células madre neurales | HACT Hormona adrenocorticotrópica |
| NPQ neuroprogenitores quiescentes | RG Receptores Glucocorticoides |
| CG Células granulares | TZD Tiazolidinedionas |
| GFAP Proteína fibrilar de la glía | PPAR Receptores activados por proliferadores de peroxisomas |
| DCx Doblecortina | RXR Receptor retinoide X |
| NeuN Marcador de núcleos neuronales | iNOS Oxido nítrica sintasa inducible |
| Shh Sonic Hedgehog | LDL Lipoproteínas de baja densidad |
| BMP Proteína morfogenética del hueso | NF-κb Factor nuclear κβ |
| NMDA Ácido N-metil-D-aspartato | COX-2 Prostaglandina-endoperóxido sintasa 2 |
| GABA Ácido Gamma- aminobutírico | TNF-α Factor de necrosis tumoral α |
| ADN/DNA Ácido desoxirribonucleico | IL-6 Interleucina 6 |
| RNA_m RNA mensajero | IL-1b Interleucina 1 beta |
| BDNF Factor neurotrófico derivado del cerebro | PGZ Pioglitazona |
| BrdU Bromodesoxiuridina | GW Inhibidor de los PPAR-g GW9662 |

RESUMEN

La pioglitazona (PGZ), es un fármaco sensibilizador a insulina utilizado en el tratamiento de la diabetes tipo II, el cual actúa a través de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas PPAR de tipo gamma (γ). Los PPAR γ regulan la sensibilización a la insulina en tejidos periféricos, intervienen en la lipogénesis, adipogénesis, maduración de macrófagos y control de la inflamación. Se ha visto que los PPAR γ se expresan en el giro dentado del hipocampo, lugar donde se lleva a cabo la neurogénesis hipocampal. Por otra parte, la PGZ ejerce un efecto antiinflamatorio y como antioxidante, por lo cual, su posible uso terapéutico en trastornos del ánimo como la depresión y ansiedad resulta interesante. En este trabajo, se utilizó la prueba de nado forzado como modelo predictivo de conductas tipo depresivas. El diseño experimental consistió en administrar PGZ (15 mg/Kg/día) durante 16 días. Posteriormente, se aplicó una batería de pruebas conductuales que fueron: rotómetro, campo abierto, localización y reconocimiento de objeto novedoso, restricción de alimento y nado forzado. Al final de esta evaluación conductual se obtuvieron cortes coronales de cerebro para el análisis histológico mediante técnicas de inmunohistoquímica de los siguientes marcadores: Ki67 (proliferación), BrdU (supervivencia), DCX (migración) y tinción de Golgi Cox (maduración de espinas dendríticas). Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron demostrar que la PGZ favorece la maduración neuronal en el giro dentado del hipocampo, demostrado por el aumento en células positivas a DCX; así como un mayor número de espinas dendríticas y de la morfología tipo hongo. En este trabajo tanto la proliferación (Ki67), como la supervivencia (BrdU) no se modificaron. Finalmente, es importante resaltar que los cambios observados en la maduración neuronal y espinas dendríticas no provocaron beneficios a nivel conductual, aunque, algunos estudios han relacionado al efecto tipo antiinflamatorio de la PGZ con la disminución de conductas tipo depresivas en modelos de estrés crónico impredecible. De tal modo que el efecto tipo antidepresivo de la PGZ relacionado a la neurogénesis hipocampal, deberá ser considerado para su estudio en un modelo de depresión más específico.

ABSTRACT

The thiazolidinedione, pioglitazone, belongs to the drugs primarily enhance insulin sensitivity. It is used in the management of type 2 diabetes. This drug acts through the activation of the peroxisome proliferator-activated-receptor-gamma(PPAR γ). PPAR γ receptors modulates insulin sensitivity in the peripheral tissues, lipogenesis, adipogenesis, macrophage maturation and inflammation. It has been reported that PPAR γ expresses itself in the dentate gyrus, the place of hippocampal neurogenesis. Also, PGZ exerts antiinflammatory and antioxidant effects, hence, its therapeutical use on stress-related disorders such as anxiety and depression have gained great interest. This study uses the Porsolt test as a predictive model of depressive-like behavior. Our experimental design consists in the administration of PGZ (15 mg/Kg, IP) for 16 days. Later, a behavioral battery test was applied: ROTAROD, open field, novel object localization, novel object recognition, food restriction and the Porsolt test. At the end of the behavioral tests we obtained coronal brain slices for histological analysis through techniques of immunohistochemistry: Ki67 (cell proliferation), BrdU (cell survival), doublecortin (cell migration/maturation) and the Golgi Cox staining. Our results demonstrate that PGZ favour neuronal maturation in the dentate gyrus, increasing the DCx marker; as well as an increment of dendritic spines and their mushroom morphology. Meanwhile, proliferation and survival were not affected significantly. It is important to remark that these changes in neuronal maturation and their dendritic spines did not modify mice behavior. There a few studies implying an anti-inflammatory effect of PGZ, as well as the reduction of depressive-like behavior due to chronic unpredictable mild stress models. Considering all the above, the antidepressant effect of PGZ related to hippocampal neurogenesis must be considered in a specific model of depression in the future.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades: Anatomía del hipocampo

Caudal a la amígdala, el hipocampo (HP), derivado de la región medial del telencéfalo, es una estructura bilaminar de materia gris que forma el piso de la asta inferior temporal (del ventrículo lateral) y se extiende desde el margen anterior de la asta ventricular al esplenio del cuerpo calloso (Campbell y MacQueen, 2004). Por lo tanto, forma parte del sistema límbico y tiene un papel importante en la adquisición del aprendizaje espacial y la consolidación de la memoria a largo y corto plazo, así como en la regulación de conductas relacionadas con los trastornos del ánimo. Las láminas que componen el complejo hipocampal (CH) consisten en el giro dentado y el cornu Ammonis. El giro dentado del hipocampo posee una alta densidad neuronal, principalmente células granulares (CG) (Aimone y Gage, 2011). Por otra parte, el cornu Ammonis, en cortes coronales, puede ser dividido en las regiones CA1 a CA4, basándose en la morfología de las neuronas piramidales (Duvernoy, 1998). Las células glutamatérgicas piramidales y las granulares representan el 90% del área hipocampal, el 10% restante son interneuronas de tipo GABA (Fritschy *et al.*, 1998).

1.1.2. Breve historia de la Neurogénesis (NH)

En 1962, Joseph Altman descubrió las células nuevas bien delimitadas en el cerebro de ratón (Altman, 1962). El mismo fenómeno fue observado por Michael Kaplan y Fernando Nottebohm en 1983 cuando demostraron la presencia de estas células en el cerebro adulto de ratón y canarios y cuyas características estructurales correspondían al de tipo neuronal; mientras que en humanos el estudio de la neurogénesis fue demostrada a través del análisis del tejido *postmortem* de pacientes con cáncer (Eriksson *et al.*, 1998).

1.1.3. ¿Qué es la Neurogénesis hipocampal?

La neurogénesis hipocampal es un proceso evolutivo bien conservado en los vertebrados (Alvarez-Buylla *et al.*, 2002). Este proceso abarca no sólo la “proliferación de las nuevas neuronas, sino también la determinación del linaje celular, su diferenciación, maduración, migración e integración a las redes neuronales ya establecidas” (revisado en Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2018; Kempermann *et al.*, 2008; 2015). Las nuevas neuronas al madurar se integran a circuitos neuronales preexistentes. Debido a esto se sabe que la neurogénesis tiene un gran impacto en procesos cognitivos y emocionales.

Actualmente la evidencia señala que la neurogénesis ocurre en dos áreas principales 1) la zona subgranular (ZSG) del giro dentado del hipocampo, en donde hay generación local de nuevas neuronas granulares asociadas al aprendizaje, memoria y trastornos de la conducta y 2) en la zona subventricular (ZSV) de donde las nuevas células migran a través del canal rostral migratorio (CRM) dando lugar a neuronas del bulbo olfatorio (Ma *et al.*, 2009). Sin embargo, se ha reportado que la NG ocurre también en el neocórtex (restringido al periodo perinatal), estriado, amígdala, sustancia nigra y otras áreas (Gould, 2007).

1.1.4. Proceso neurogénico

Se ha propuesto que uno de los tipos celulares que da origen a las células precursoras, son los astrocitos. Sin embargo, hay dos grupos de células en el SNC con actividad mitótica: las células troncales neurales y las células progenitoras. Las primeras, se derivan de células troncales embrionarias, son pluripotentes y pueden dar origen a otros tipos de linajes como las células progenitoras (Gage, 2000). Las células progenitoras neurales (o células madre) únicamente dan origen a las nuevas neuronas del giro dentado, ya que son capaces de dividirse asimétricamente y dan origen a linajes celulares como los astrocitos y neuronas funcionales *per se*.

En el giro dentado del hipocampo el proceso neurogénico inicia con las CGR que residen en la ZSG. Las CGR dan origen a poblaciones transitorias, los neuroprogenitores amplificadores (NPA; tipo 2^a) que se diferencian y proliferan a células comprometidas (NB; tipo 2b y 3). Al final de la cuarta semana, las NB se convierten en neuronas maduras y son integradas al circuito (Kempermann *et al.*, 2004; Encinas y Enikolopov, 2008). La maduración neuronal se extiende por semanas, con neuronas pasando por periodos críticos para la supervivencia y plasticidad sináptica (Tashiro *et al.*, 2006, 2007). Después, las neuronas jóvenes incrementan la excitabilidad, inicialmente debido a las propiedades eléctricas y más tarde a la plasticidad sináptica e inhibición reducida debido a las CG maduras (Ambrogini *et al.*, 2004; Schmidt-Hieber *et al.*, 2004; Esposito *et al.*, 2005). Sin embargo, no todas las neuronas sobreviven, varias mueren con apenas semanas de haber surgido (Kempermann *et al.*, 2003). La supervivencia es *actividad dependiente*, consistente con el hallazgo de que un ambiente enriquecido (ejercicio, estimulación temprana) incrementa el número de nuevas neuronas meses más tarde (Tashiro *et al.*, 2007).

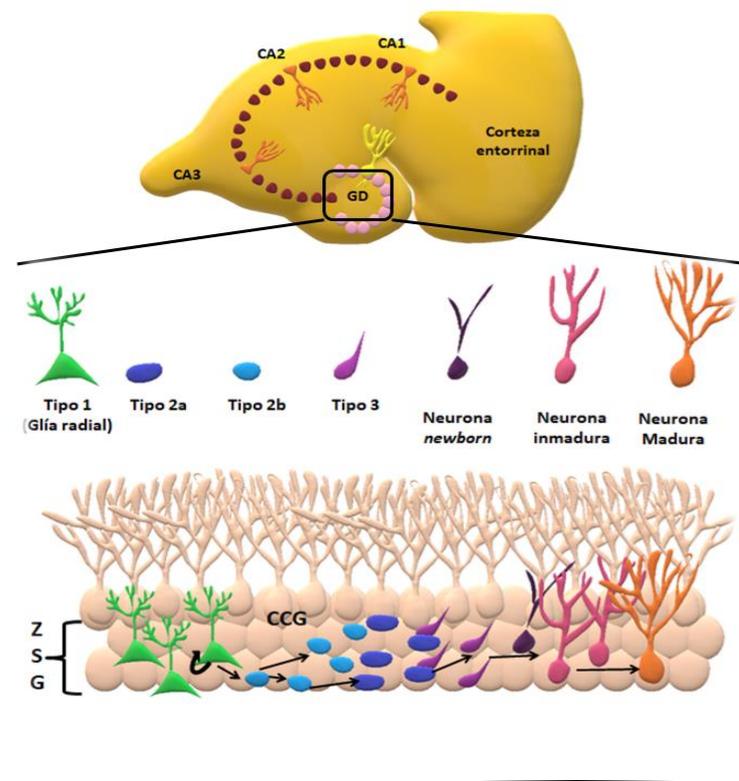


Fig.1. Diferenciación de los tipos celulares en el giro dentado durante el proceso neurogénico. ZSG: Zona subgranular; CCG: capa de células granulares. (Modificado de Toda y Gage, 2017).

Debido a que el hipocampo está asociado con el aprendizaje y memoria, se llegó a la hipótesis de que la NHA podría llevar a cabo un papel fundamental en el procesamiento cognitivo (Toda y Gage, 2017). Este proceso estaría influenciado por la experiencia, los factores ambientales y biológicos (como el envejecimiento) (Cameron y McKay, 1999; Mirescu *et al.*, 2004). La continua adición de nuevas neuronas durante el tiempo de vida (aproximadamente 700 células por día en el humano) implica que la NHA podría participar en la plasticidad funcional y estructural del circuito trisináptico del hipocampo (Toda y Gage, 2017; Spalding *et al.*, 2013).

1.1.5. Factores que intervienen en la neurogénesis

Actualmente es sabido que la neurogénesis en mamíferos no se encuentra restringida al periodo prenatal, sino que continúa en la adultez (Gross, 2002) y que estas nuevas neuronas se pueden integrar a los circuitos del sistema HC (Wang *et al.*, 2000; Cameron y McKay, 2001; Schmidt-Hieber *et al.*, 2004).

Factores extrínsecos e intrínsecos regulan la NHA en diferentes etapas del desarrollo, los cuales incluyen: factores de crecimiento/morfógenos y sus receptores, hormonas, neurotransmisores, moléculas de adhesión celular, factores citoplásmicos, factores transcripcionales y modificadores epigenéticos. Aislar progenitores neurales adultos permite determinar la plasticidad celular, mientras tanto, el trasplante de progenitores en diferentes áreas cerebrales demostró que pueden proliferar y madurar solamente en las regiones neurogénicas (Gage *et al.*, 1995). Sin embargo, estos progenitores pueden diferenciarse en neuronas no hipocámpales, lo cual demuestra la importancia de las señales ambientales en determinar el destino de las nuevas neuronas adultas (Suhonen *et al.*, 1996).

Los morfógenos y citocinas son esenciales para la formación y mantenimiento de las CG en la ZSG, (Han *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2013). Otro ejemplo es la proteína

morfo genética del hueso (BMP), implicada en la regulación de la neurogénesis y es suministrada por el mismo microambiente local. La BMP regula el balance entre la proliferación y la quiescencia de las CGR, así como la amplificación y maduración de progenitores neurales intermedios a (Mira *et al.*, 2010; Bond *et al.*, 2014). La señal de BMP modula la neurogénesis en diferentes aspectos a través de diferentes receptores, lo cual sugiere que existen cascadas específicas que contribuyen a regular esta señalización. Si esta señal se atenúa favorece la proliferación de progenitores neurales en el hipocampo durante la vejez (Yousef *et al.*, 2015). Lo cual sugiere que la secreción de BMP es resultado de la vejez del nicho ambiental y disminuye el proceso neurogénico.

1.1.6. Efecto ambiental, emocional y del aprendizaje

Se sugiere que las señales ambientales modifican la red neuronal en el hipocampo, modulando así la actividad sináptica que interfiere a su vez sobre las neuronas inmaduras. Se ha comprobado que existe un incremento de la neurogénesis y de la memoria espacial en modelos de ambiente enriquecido (Kempermann *et al.*, 2002) y de actividad física (van Praag *et al.*, 1999).

Múltiples evidencias señalan que la NHA en el GD interviene en la regulación emocional. Sin embargo, este sistema es muy sensible al estrés del periodo perinatal (Lehman *et al.*, 2013). El subículo ventral del hipocampo inhibe la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenocortical, sistema adaptivo ante los desafíos físicos y psicológicos (Jankord y Herman, 2008), sin embargo, las nuevas neuronas participan en el balance de su actividad. El hipocampo ventral está asociado con la memoria social y ansiedad (Okuyama *et al.*, 2016), mientras el hipocampo dorsal aparentemente regula la conducta depresiva a través de la amígdala (Ramirez *et al.*, 2015). El aprendizaje puede considerarse como una modificación estructural y funcional del SN como resultado de un cambio en la conducta relativamente permanente y la información es retenida o almacenada en los circuitos neuronales (Golud *et al.*, 1999).

Factores epigenéticos como modificaciones en histonas, metilación/desmetilación del DNA y mRNA, están involucrados en la regulación de la NHA. (Jawerka *et al.*, 2010).

1.1.7. Biomarcadores de la neurogénesis

Los tipos celulares y fases particulares del ciclo celular pueden ser determinados por biomarcadores que pueden actuar sobre otros tipos celulares en proliferación como astrocitos, oligoprogenitores y células endoteliales. Con el surgir de nuevos marcadores celulares específicos, el estudio de la NHA ha permitido conocer las características de las nuevas neuronas. A continuación, se mencionan algunos.

La BrdU permite cuantificar el número de células en división y trazar su progenie (supervivencia), este se incorpora en el DNA durante la fase S del ciclo celular y se transmite a las células hijas (Miller y Nowakowski, 1988; Eriksson *et al.*, 1998; Karpowicz *et al.*, 2005). A pesar de no atravesar la barrera hematoencefálica, utiliza los transportadores de deoxitimidina (Spector y Johanson, 2007) y su efecto puede ser afectado por condiciones que afectan la BHE como la inflamación, radiación y trauma. Particularmente este tipo celular tiene la característica de presentar un ciclo *lento* y de auto-renovación; la BrdU es retenida por largos periodos y permite seguir su distribución en diferentes periodos sobre el hipocampo (Li y Xie, 2005).

En la zona subgranular se localiza una población de células troncales con características de glía radial que tienen filamentos intermedios como la nestina y la proteína ácida fibrilar (GFAP). Los progenitores que se originan a partir de esta población se comprometen a un linaje neural entre tres y siete días después del nacimiento. Las nuevas células logran diferenciarse como tipo celular 2a, 2b y 3 dependiendo los marcadores celulares que expresen. Los tipos 2b y 3 expresan doblecortina (DCX), proteína de unión a microtúbulos y marcador de neuronas inmaduras entre uno y catorce días después de su generación. Otras pueden

presentar características de células progenitoras, ya que expresan Ki-67 (marcador de proliferación), proteína nuclear que posee un ciclo celular de expresión variable y no tan específico como BrdU. Su presencia se relaciona con la capacidad proliferativa de un tejido. De manera general, los niveles de Ki67 son bajos durante la fase G1 y S-temprana, con un incremento que alcanza su máximo nivel durante la mitosis; posteriormente va a la baja en las fases de anafase y telofase por lo que su vida media es de 1 a 1.5 horas (Urruticoechea *et al.*, 2005; Mohammed, 2019).

El tipo 2b expresa el marcador NeuN, 72 horas después de su generación (Olivares-Hernández *et al.*, 2015). El mismo tipo puede dividirse una vez más y dar origen al tipo 3, el cual expresa doblecortina (DCX) y NeuN (Tabla 1).

| Antígeno | Función | Expresión | Referencias |
|---|---|---|---|
| Ki67 | Marcador indirecto de mutación y proliferación | Durante fase G1-M | Hall y Woods, 1990; Del Bigio, 1999; Sanai <i>et al.</i> , 2004; Boldrini <i>et al.</i> , 2009 |
| BrdU (Bromodeoxiuridina) | Comportamiento del ciclo celular y realizar su seguimiento. | Fase S | Eriksson <i>et al.</i> , 1998; Hill <i>et al.</i> , 2015; Kin <i>et al.</i> , 2017 |
| GFAP (Proteína ácida fibrilar glial) | Forma parte de filamentos intermedio | CPN, células B, glía radial, astrocitos | Eriksson <i>et al.</i> , 1998; Curtis <i>et al.</i> , 2003; Mattiesen <i>et al.</i> , 2009; Marti-Fabregas <i>et al.</i> , 2010 |

| | | | |
|--|---|--|---|
| DCX (Doblecortina) | Promueve la proliferación de microtúbulos | Neuroblastos y neuronas | Bedard y Parent, 2004; Liu <i>et al.</i> , 2008 |
| Iba-1 | Marcaje de células inmunorreactivas de la microglía | Microglía | Maurya y Mishra, 2018; Lutz y Le Foll, 2019 |
| NeuN (núcleos neuronales) | Factor de splicing de la familia Fox-3 | Neuronas | de Morais <i>et al.</i> , 2017; Ramírez <i>et al.</i> , 2018 |
| Nestina | Filamento intermedio | CPN, astrocitos, glía radial, células perivasculares | Albright <i>et al.</i> , 2016; Farzanehfar <i>et al.</i> , 2017 |
| PSA-NCAM (molécula de adhesión celular) | Involucrado en la regulación/migración celular | Migración de neuroblastos | Murray <i>et al.</i> , 2016; Monzo <i>et al.</i> , 2017 |

Tabla.1. Principales marcadores utilizados para el estudio de la neurogénesis hipocampal.

1.2 Depresión

La depresión es un trastorno mental con gran incidencia a nivel mundial, caracterizado por la presencia de tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa o falta de autoestima, trastornos del sueño o del apetito, sensación de cansancio y falta de concentración (OMS, 2019). Se estima que la depresión afecta a más de 300 millones de personas y en el peor de los casos puede llevar al suicidio (cada año con 800, 000 casos) representando la segunda causa de muerte en la población de 15 a 29 años (Smith, 2014). Asimismo, presenta una proporción de incidencia de 3:1 a favor del sexo femenino.

A pesar de que existe una gran cantidad de tratamientos farmacológicos para este trastorno, más de la mitad de los casos no están correctamente diagnosticados, no tienen acceso a especialistas y no reciben tratamientos. Los episodios depresivos pueden clasificarse como leves, moderados y graves. Asimismo, aproximadamente 30-40% de los pacientes no responden a los fármacos (Holtzheimer y Mayberg, 2011).

1.2.1. Patología de la depresión

El transcurso de la depresión se encuentra mediado por un desbalance en los niveles de monoaminas, como la serotonina y noradrenalina, lo que se conoce como la *hipótesis de monoaminas* (Duman., 2000). La cual establece que los fármacos antidepresivos como los inhibidores de la recaptación de serotonina (SSRI) y antidepresivos tricíclicos (ATC) mejoran la sintomatología al incrementar los niveles sinápticos de las monoaminas (Wong y Licinio, 2001). Los pacientes con este trastorno presentan atrofia hipocampal que se relaciona con un bajo perfil cognitivo (Sheline *et al.*, 1996; Frodl *et al.* 2006). A nivel estructural se presenta un tamaño pequeño del soma de las neuronas piramidales y alta densidad de células gliales, piramidales y granulares en el hipocampo (Stockmeir *et al.*, 2004). También se presenta un incremento de la apoptosis hipocampal (Lucassen *et al.*, 2001).

La patología subyacente a este trastorno determinó también lo que se conoce como la hipótesis neurogénica de la depresión postulada por Drew y Hen en 2007. La cual menciona que alteraciones sobre la neurogénesis determinan el curso de la depresión así como el efecto conductual de los antidepresivos. Basada en la evidencia del incremento de la neurogénesis hipocampal en ratones tratados con antidepresivos crónicos y de la importancia de este suceso para efectuar modificaciones a nivel conductual (Malberg *et al.*, 2000; Santarelli *et al.*, 2003).

1.2.2. Factores que contribuyen a la depresión

El estrés, definido como una falla en la adaptación a situaciones desafiantes, forma parte de la sintomatología de la depresión y en general de la mayoría de los trastornos del ánimo (ansiedad, miedo) (Craske *et al.*, 2009). La triada de estrés, ansiedad y depresión se ha observado en diferentes modelos como el de desesperanza, estrés crónico leve y estrés crónico psicosocial (Vollmayr *et al.*, 2007; Pryce y Seifritz, 2011). Los pacientes deprimidos muestran fallas en la ejecución de tareas de memoria dependientes del HP. La exposición al estrés prolongado es un alto factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, sobre todo en aquellos individuos con mayor predisposición genética (Gold y Chrousos, 2002).

1.2.3. Estrés y neurogénesis

La exposición al estrés puede incrementar la excitación local y favorecer la inducción de la despolarización por flujos de calcio y mayor vulnerabilidad del GD a la muerte celular por excitotoxicidad. Ya que se propone que los cambios funcionales son causa de la regulación transcripcional de las subunidades del receptor glutamato (Qin *et al.*, 2004). El estrés prolongado tiene efectos sobre la cognición, al inhibir la adquisición de nueva información espacial dependiente del HC y alterar la eficacia sináptica (Krugers *et al.*, 1997). Por lo anterior, la mayor respuesta fisiológica al estrés es la activación del sistema neuroendocrino, en particular por el eje hipófisis-pituitaria-adrenal (HPA). En este sistema, el factor liberador de corticotropina es liberado del núcleo paraventricular del hipotálamo para estimular la glándula pituitaria y producir la hormona adrenocorticotrópica (HACT) que estimula la descarga de glucocorticoides (cortisol en humanos; corticosterona en roedores) de la corteza adrenal a la circulación. Este mecanismo tiene un impacto negativo y limita la activación del eje HPA (Holsboer e Ising, 2010). Por el contrario, el hipocampo ejerce control inhibitorio sobre el eje HPA y el cortisol actúa negativamente al inhibir el eje HPA.

La exposición crónica a los glucocorticoides es neurotóxica y estudios preclínicos han demostrado que las células granulares del hipocampo son sensibles a estas sustancias. Esta exposición genera una pérdida de los receptores glucocorticoides (RG) en las células granulares con una desinhibición del eje HPA e incremento de los corticosteroides (Raison *et al.*, 2006). También se favorece una hiperestimulación a través de la activación de enzimas dependientes de calcio y la producción de radicales libres, disminución del transporte de glucosa en la célula y pérdida energética, así como el decremento de la producción de BDNF que provee soporte celular. En particular, este proceso es común en aquellas personas que cometen suicidio (Karege *et al.*, 2005). También se ha reportado el efecto de las hormonas sobre la neurogénesis, como glucocorticoides que reducen la neurogénesis que generan atrofia dendrítica y disminuyen el volumen hipocampal (Mirescu y Gould, 2006; Tata y Anderson, 2010).

En modelos de estrés psicosocial con ratas, se ha visto que muestran una regulación a la baja de la expresión del transportador 5-HT en la región de CA3, lo anterior debido a dos factores: una reducción de la densidad de las terminales serotoninérgicas y la reducción de la expresión del transportador. En cuanto a jerarquías, las ratas dominantes muestran una mayor reducción de los sitios de transporte de 5-HT y de atrofia dendrítica a diferencia de las ratas subordinadas (McKittrick *et al.*, 2000).

El estrés a largo plazo acelera los procesos de envejecimiento a través del aumento de la excitabilidad de las neuronas piramidales de CA1 mediante mecanismos dependientes de calcio que favorecen la pérdida de neuronas piramidales en el HP (Kerr *et al.*, 1991). Los glucocorticoides interfieren sobre BDNF, esto modifica en su morfología a la neurona inhibiendo la arborización dendrítica. El incremento en la actividad del eje hipotálamo-hipofisiario-adrenal resulta en un aumento de los niveles de glucocorticoides lo cual se ha visto principalmente en el trastorno depresivo mayor (Young *et al.*, 1994). Esta modificación negativa favorece una

deficiencia en el control de la liberación de la corticotropina que aumenta los glucocorticoides en la circulación e inducen arresto del ciclo celular en las células periféricas (Rogatzky *et al.*, 1997).

1.3. Modelos utilizados para evaluar conductas tipo depresivas

| Modelo | Estímulo/Síntomas | Agudo/Crónico |
|------------------------------------|--|---------------|
| Nado forzado (Porsolt test) | Inmersión en el agua → desesperanza | Agudo |
| Estrés crónico impredecible | Factores físicos impredecibles → Anhedonia | Crónico |
| Suspensión de cola | Restricción → desesperanza | Agudo |
| Estrés temprano | Separación materna, estrés prenatal → interrupción en el desarrollo de conducta social | Crónico |

Tabla 3. Modelos experimentales utilizados en el evaluación de conductas tipo depresivas.

1.3.1. Antidepresivos y neurogénesis

El HP es altamente vulnerable en gran cantidad de desórdenes como la esquizofrenia, trastorno bipolar, estrés post-traumático y depresión (Bremner *et al.*, 1995; Sheline *et al.*, 1996; Bryant *et al.*, 1999; Beyer y Krishnan, 2002; Vythilingam *et al.*, 2002; MacQueen *et al.*, 2003; Kemp *et al.*, 2014). La reducción en volumen del HP es resultado de modificaciones celulares como la retracción de las dendritas, pérdida de células gliales y disminución de la neurogénesis en el GD (McEwen, 1999; Malberg *et al.*, 2000; Rajkowska, 2000; Czeh *et al.*, 2001).

Se ha propuesto que los antidepresivos ejercen su efecto al promover la neurogénesis (Santarelli *et al.*, 2003), pues estos fármacos incrementan la biodisponibilidad y actividad de las monoaminas como la 5-HT (Cryan y Leonard, 2000). El tratamiento a largo plazo con antidepresivos está mediado por los

sistemas monoaminérgicos que estimulan el adenilato ciclasa que incrementa la fosforilación por adenosina cíclica monofosfato (AMPc) y los elementos de respuesta al AMPc (CREB) en CA1, CA3 y el GD (Young *et al.*, 1998). Esto es de gran relevancia ya que la regulación positiva de CREB es un blanco de los sistemas serotoninérgicos y noradrenérgicos, los cuales están implicados en la fisiopatología de la depresión (Gould *et al.*, 1999). CREB se encarga de modular la producción de BDNF, el cual presenta una disminución en el hipocampo en respuesta al estrés constante (Rasmusson *et al.*, 2002).

1.4. Tiazolidinedionas (TZD)

Las tiazolidinedionas son compuestos desarrollados para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II, regulan la expresión de varios genes involucrados en la regulación de la glucosa, metabolismo de lípidos y proteínas y que favorecen la sensibilización a la insulina en el tejido al incrementar la recaptura de glucosa en el musculo esquelético y en tejido adiposo, lo cual disminuye la producción hepática de glucosa.

Existe múltiple evidencia de la actividad de las TZD en diferentes condiciones neurológicas y psiquiátricas como el autismo (Boris *et al.*, 2007), Alzheimer (Miller *et al.*, 2011), esclerosis múltiple (Kaiser *et al.*, 2009) y trastorno depresivo mayor (Kemp *et al.*, 2009; Sadaghiani *et al.*, 2012; Sepanjnia *et al.*, 2012).

1.4.1. Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR)

Los PPAR son una superfamilia de receptores nucleares que se encuentran relacionados con la hormona tiroidea y receptores retinoides (Desvergne y Wahli, 1995). Son factores de transcripción activados por ligando que regulan la expresión génica; una vez que se une un agonista, los receptores PPAR se heterodimerizan con el receptor retinoide X (RXR) y se unen a los elementos de respuesta de los PPAR localizados en la región promotora de los genes blanco (Fig. 2) (Miyata *et al.*,

1994; Berger y Moller, 2002). La tarea principal de los PPAR es regular la expresión de genes involucrados en el metabolismo lipídico y en la diferenciación de los adipocitos. De esta manera, los subtipos o isoformas de los PPAR presentan diferente expresión dependiendo el tejido y con funciones específicas (Tabla 2).

| Subtipo | Localización | Función |
|----------------------|---|--|
| PPAR- α | Hígado, riñones, músculo, corazón | Mediador del metabolismo lipídico, antiinflamatorio, cardioprotector, homeostasis lipídica |
| PPAR- β/δ | Distribución heterogénea | Regulación del metabolismo lipídico, proliferación celular, respuesta inflamatoria |
| PPAR- γ | Tejido adiposo, células del intestino grueso, pared vascular, células endoteliales, células del músculo liso, células T, macrófagos | Diferenciación de los pre-adipocitos y adipocitos, metabolismo lipídico, modulador de la acción de la insulina, homeostasis lipídica, antiinflamatoria |

Tabla.2. Función biológica de las isoformas de los PPAR.

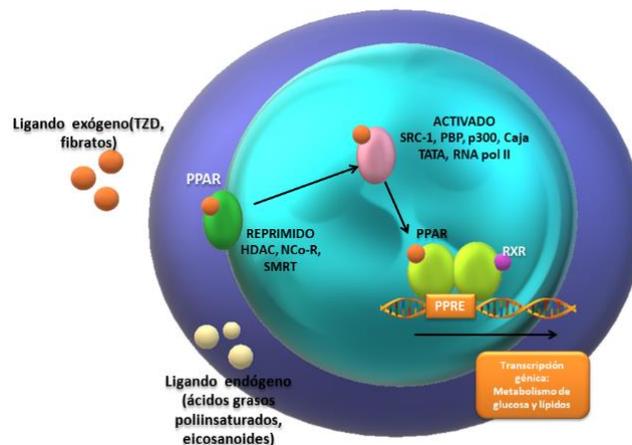


Fig. 2. Estructura y activación de los PPAR (Modificado de Moraes *et al.*, 2006).

La troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona son miembros de las TZD, ejerciendo su efecto como potentes agonistas exógenos de los PPAR-g. Sin embargo, actualmente, sólo los dos últimos se encuentran aceptados para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo II, ya que la troglitazona demostró estar asociada a la disfunción hepática (Saltiel y Olefsky, 1996; Watkins y Whitcomb, 1998).

1.4.2. Generalidades de la Pioglitazona

La pioglitazona es un fármaco sensibilizador a la insulina utilizado en el tratamiento de la diabetes tipo II cuyo mecanismo es reducir la resistencia a la insulina al activar los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR), específicamente los de la isoforma gamma (PPAR-g). Los receptores PPAR-g en el SNC regulan la sensibilización a la insulina en tejidos periféricos y aparentemente influyen en las emociones y el comportamiento (Ryan *et al.*, 2011). A nivel de SNC se expresan en la ZSG del giro dentado, sustancia *nigra* y corteza (Moraes *et al.*, 2006; Kalonia *et al.*, 2010).

Este fármaco ejerce su efecto a través de la activación de los PPAR- γ que presentan un efecto benéfico en el metabolismo de los lípidos, propiedades antiinflamatorias a nivel central y periférico, así como un aparente efecto neuroprotector (Heneka y Landreth, 2007; García-Bueno *et al.*, 2010). Algunos efectos adversos de la pioglitazona son mareos, irritabilidad, incremento de apetito y edema periférico (Kashani *et al.*, 2013).

1.4.3. Activación de los PPAR γ

La activación del PPAR γ es uno de los pasos vitales para la diferenciación de las células precursoras del pre-adipocito para convertirse en adipocito, así como en la modulación del metabolismo de la glucosa (Tontonoz y Spiegelman, 1994). Las TZD

como la pioglitazona se unen al PPAR γ con gran afinidad en los adipocitos, lo cual incrementa la respuesta a la insulina y la habilidad de recaptura de la glucosa, así como del almacenamiento lipídico (Schoonjas y Auwers, 2000). Diversos estudios demuestran que los ligandos de los PPAR γ poseen efectos antiinflamatorios, antiproliferativos y antiplaquetarios. Asimismo, inhiben la expresión del óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), uno de los factores más importantes en el proceso inflamatorio (Ricote *et al.*, 1998)

La activación de los receptores PPAR γ en los monocitos promueve la diferenciación monocito/macrófago y la sobreexpresión del receptor CD36 que favorece la recaptura de las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL) (Nagy *et al.*, 1998). Los ligandos de los PPAR γ inhiben la respuesta de las células T con una reducción en la expresión de citocinas, también interfiere con la vía de señalización de NF- κ B (factor nuclear κ B) y suprime la producción de la COX-2 (Inoue *et al.*, 2000).

Los agonistas de PPAR-g pueden inhibir la cinasa glicógeno sintasa (CGS)-3b y estimular la vía de la b-catenina (Ponce-Lopez *et al.*, 2011). En este caso, la activación de la CGS-3b está asociada con anomalías en cerebros de pacientes con depresión que incluyen la respuesta neuronal anormal al estrés, neuroinflamación y anomalías del ritmo circadiano (Jope, 2011). En hombres, el incremento de la actividad de CGS-3b en la corteza prefrontal ventral está vinculada a un mayor riesgo de padecer depresión, mientras que la disminución de la actividad de la b-catenina está presente en individuos con este padecimiento (Karege *et al.*, 2012). Otras rutas por las cuales estaría mediando su efecto la pioglitazona son la expresión de Bcl-2 (Fuenzalida *et al.*, 2007), modulación del óxido nítrico y del NMDA (N-metil-D-asparatato) (Sadaghiani *et al.*, 2011; Salehi-Sadaghiani *et al.*, 2012) y la inhibición de p38MAPK (Muschamp *et al.*, 2011).

1.4.4. Inflamación y PPAR γ

Dado que los agonistas de los PPAR γ inhiben la expresión de genes inflamatorios y modulan vías sensibles al estrés oxidante (ambos mecanismos implicados en la fisiopatología de la depresión), estos representan un blanco para el tratamiento de depresión (Delerive *et al.*, 2001; Colle *et al.*, 2016). Cambios en la resistencia a la insulina podrían modular el ánimo al influenciar la liberación y recaptura de neurotransmisores monoaminas (Bosco *et al.*, 2011). Las citocinas pueden reducir la concentración del triptófano y precursores de las monoaminas a través de la activación de enzimas como la 2,3 dioxigenasa que interviene en la conversión de triptófano de la serotonina en quinurenina y la formación de metabolitos neuroactivos que regulan la dopamina y glutamato (Raison *et al.*, 2009). Estas citocinas inhiben la neurogénesis activando el NF- $\kappa\beta$, implicado en la patogénesis de la resistencia a la insulina hepática y contribuyen al desarrollo de la depresión (Koo y Duman, 2008; Kleeman *et al.*, 2010).

1.4.5. Pioglitazona en estudios preclínicos y clínicos

Estudios realizados en humanos han demostrado que pacientes con depresión y síndrome metabólico tratados con pioglitazona presentaron una mejora del ánimo (Kemp *et al.*, 2012). En los trabajos de Sepanjnia *et al.*, (2012), la combinación de pioglitazona con citalopram influenció la mejora sobre síntomas depresivos incluso mejor que el citalopram. La resistencia a la insulina está correlacionada con un aumento de la severidad de la depresión (Timonen *et al.*, 2007) razón por la cual la PGZ estaría relacionada a una mejora en pacientes con trastorno depresivo mayor (Kemp *et al.*, 2009). Algunos modelos de depresión de tipo predictivo como el de nado forzado (Test de Porsolt) y suspensión de cola se utilizan principalmente para determinar el efecto tipo-antidepresivo mediado por los PPAR-g (Eissa y Al-Rasheed, 2009). En el trabajo de Sadaghiani *et al.*, del 2011, la administración de pioglitazona disminuyó el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado, prueba relacionada a la conducta de desesperanza y que es interpretado como una conducta tipo depresiva.

Los ligandos de los PPAR- γ han mostrado inhibir la expresión de TNF- α , IL-6 y la IL-1 β en monocitos, mientras que los PPAR regulan negativamente la transcripción de genes de respuesta inflamatoria al antagonizar las vías de señalización de la proteína-1 y NF- κ B (Jiang *et al.*, 1998). Niveles altos de IL-6 están asociados a una disminución de la respuesta a los antidepresivos (refractaria) por lo que la pioglitazona favorecería una mayor mejora en los pacientes con niveles altos de IL-6 (Yoshimura *et al.*, 2009).

Por otra parte, los agonistas de PPAR- γ pueden incrementar los niveles al triple de adiponectina en plasma, la cual es una hormona derivada de los adipocitos y que presenta propiedades antiinflamatorias y sensibilizadoras a la insulina (Liu *et al.*, 2012). Lo anterior representa un mecanismo de compensación ante un aumento de la inflamación (Barbosa *et al.*, 2012). De manera general, es posible que las TZD median su efecto antidepresivo mediante la atenuación de la inflamación, ya que estas pueden inhibir NF- κ B Y COX-2, previniendo la expresión de TNF- α , los cuales son mecanismos de daño vinculados a la depresión y su severidad (Kalonja *et al.*, 2010; Asadabadi *et al.*, 2012).

2. Justificación

Estudios de nuestro grupo de trabajo han demostrado que, de acuerdo con una curva dosis-respuesta, la PGZ en ratones de la cepa C57Bl6/J favorece el proceso neurogénico que ocurre en el giro dentado del hipocampo, región en donde los PPAR γ se expresan de manera abundante. Sin embargo, la participación de los PPAR γ en el efecto proneurogénico de la PGZ así como su posible efecto tipo antidepresivo y sobre la cognición en hembras de la cepa Balb/C sin exposición a estrés aún no se conoce.

3. Hipótesis

La pioglitazona a través de la activación de los PPAR γ favorecerá el número de células positivas a doblecortina y su maduración dendrítica, así como el número de espinas dendríticas promoviendo procesos cognitivos y previniendo conductas tipo depresivas.

4. Objetivo general

Estudiar si la pioglitazona a través de la activación de los PPAR γ favorece el número de células positivas a doblecortina y su maduración dendrítica, así como el número de espinas dendríticas impactando en procesos cognitivos y previniendo conductas tipo depresivas en ratones hembra de la cepa BALB/c.

4.1. Objetivos particulares

- a) Determinar el efecto de la PGZ sobre la neurogénesis a través de la identificación de marcadores de proliferación, supervivencia, migración y diferenciación neuronal en el giro dentado de ratones hembra BALB/c.
- b) Estudiar el efecto de la PGZ sobre el número y maduración de las espinas dendríticas en las células granulares del giro dentado del hipocampo.
- c) Evaluar los cambios sobre conductas tipo depresivas y cognitivas en ratones hembra BALB/c posterior a la administración de PGZ.

5. METODOLOGÍA

5.1. Reactivos

El Paraformaldehído, persulfato de amonio, glicina, Tritón X100, BrdU (bromodesoxiuridina), tritón X100, PEG 600 (Polietilenglicol), de Sigma Aldrich, USA. El Dimetilsulfóxido (DMSO) de TEDIA, USA. Tris-Base de Affymetrix, USA. SDS de Boehringer Mannheim. Tween-20 de Meyer, México. Solución salina

inyectable 0.9% (Pisa). Clorhidrato de pioglitazona (ab120794) y GW 9662 (ab141125) de ABCAM, Reino Unido. FD Rapid Golgi Stain Kit de FD Neurotechnologies, INC., USA. ABC y DAB Kit de VECTOR Laboratories, USA.

Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico.

5.2. Sujetos experimentales

Para el manejo y uso de animales, se aplicaron los lineamientos establecidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) aprobados por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” (INPRFM). Se utilizaron ratones hembra de la cepa BALB/c de catorce semanas de edad de 19-25 gr., divididos en cuatro grupos (n=7). Se mantuvieron en el bioterio del INPRFM en cajas de acrílico transparente, en condiciones controladas de temperatura, humedad e iluminación luz/oscuridad 12/12 hr. Se proporcionó alimento y agua *ad libitum*.

6. Desarrollo experimental

6.1. Experimentos *in vivo*

Para los experimentos *in vivo* se designaron dos vehículos determinados por la solubilidad de ambos fármacos. Para la pioglitazona (PGZ), el vehículo estuvo compuesto de dimetilsulfóxido (DMSO; 10 mg/mL) y solución salina 0.9% (SS); para disolver el GW9662 se utilizó el DMSO (26 mg/mL), polietilenglicol (PEG 600) y solución salina, mientras que la bromodesoxiuridina (BrdU) fue disuelta en SS (10 mg/mL). Para todos los grupos, la administración se realizó vía intraperitoneal (IP). Antes de iniciar con los tratamientos, se inyectó una dosis única de BrdU a todos los animales. Dos horas después se administraron la PGZ y el inhibidor GW9662 durante 16 días (Fig. 3). En el caso del grupo vehículo, se administraron los medios de la PGZ y del inhibidor (dos inyecciones, vía I.P). Para el grupo de P+GW, el

inhibidor se administró una hora antes y pasado este tiempo la pioglitazona (Tabla 3).

| Grupo experimental | Tratamientos | Vía de administración | Duración (días) |
|---|------------------------|-----------------------|-----------------|
| Una sola dosis de 50 mg/kg de BrdU/SS (bromodesoxiuridina) se aplicó a todos los grupos el primer día de tratamiento (2 horas antes). | | | |
| Vehículos (V) | DMSO + SS (VPGZ) | Intraperitoneal | 16 |
| | DMSO+SS+ PEG 600 (VGW) | | |
| PGZ (VPGZ) | 15 mg/kg + VGW | Intraperitoneal | 16 |
| GW 9662 (VGW) | 2.5 mg/kg + VPGZ | Intraperitoneal | 16 |
| PGZ (VPGZ) + GW (VGW) | 2.5 mg/kg + 15 mg/kg | Intraperitoneal | 16 |
| DMSO: Dimetilsulfóxido; SS: Solución salina 0.9%; PEG 600: Polietilenglicol; BrdU: bromodesoxiuridina | | | |

Tabla.4. Grupos experimentales, vía de administración y duración.

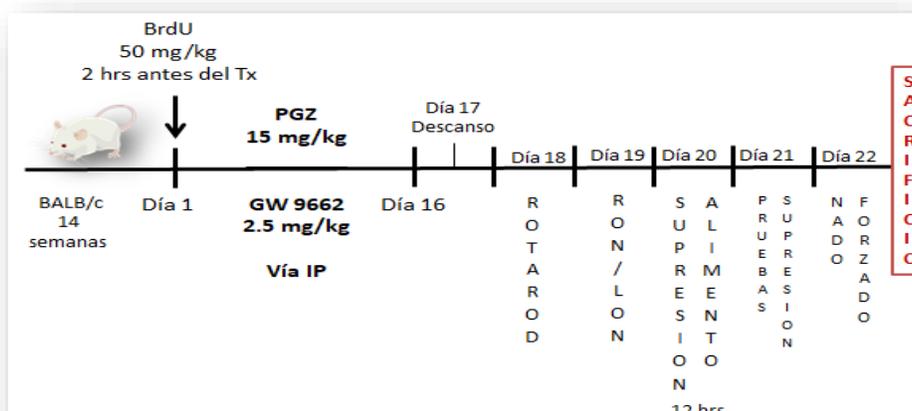


Fig. 3. Diseño experimental.

6.1.1 Pruebas conductuales

Un días después de terminar los tratamientos se iniciaron las pruebas conductuales descritas en la tabla 4. Los ratones fueron expuestos a seis pruebas durante una semana, las cuales se realizaron en orden de menor a mayor impacto para los animales.

| Prueba conductual | Objetivo | Descripción |
|--|--|---|
| ROTAROD | Prueba de coordinación motora, balance y fatiga. | Se coloca al ratón de un cilindro giratorio bajo continua aceleración y se registra el tiempo que permanece este durante 5 minutos. |
| Campo abierto | Reacción ante una situación desconocida y estresante | Se coloca al ratón en la caja de acrílico, la cual se divide en zonas y de las cuales se evalúa el tiempo que pasa el animal en cada una de ellas. |
| Localización de objeto novedoso (LON) | Ensayo para evaluar el aprendizaje y memoria en ratones. | Fase de entrenamiento: se le permite al ratón explorar dos objetos idénticos durante 5 minutos. Fase de prueba: uno de los objetos cambia de posición (objeto novedoso, ON) respecto al objeto anterior (objeto familiar, OF). Se determina el tiempo de exploración en cada objeto. |
| Reconocimiento de objeto novedoso (RON) | | Fase de entrenamiento: se le permite al ratón explorar dos objetos idénticos durante 5 minutos. Fase de prueba: se cambia uno de los objetos por otro completamente diferente (objeto novedoso) respecto al objeto anterior (objeto familiar). Se determina el tiempo de exploración en cada objeto. El índice de discriminación (ID) se obtiene con la fórmula: $ID = \frac{\text{Tiempo en el ON} - \text{Tiempo en el OF}}{\text{Tiempo total de exploración del OF+ON}}$ |

| | | |
|---------------------------------------|----------------------------------|--|
| | | Ofrece información acerca de la preferencia que mantienen los roedores hacia el objeto familiar o hacia el novedoso, los valores del ID varían entre +1 y -1, en donde los resultados positivos indican mayor tiempo de exploración sobre el objeto familiar y negativos hacia el objeto familiar. Un valor de 0 indicaría que no hay preferencia por ambos objetos (Aggleton <i>et al.</i> , 2010; Denninger <i>et al.</i> , 2018). |
| Restricción de alimento | Evaluación del estrés y ansiedad | La restricción dura 12 hrs., después de las cual se expone al animal ante un pellet al centro de su caja hogar y se mide la latencia del ratón a su primera mordida al pellet. El animal debe de roer la croqueta, de lo contrario no se considera efectiva la prueba. |
| Nado Forzado (Test de Porsolt) | Desesperanza | Se introduce al ratón en un cilindro de vidrio en el cual se colocan aproximadamente 1.5 Lt o el volumen necesario para que el ratón no roce la base del recipiente. Durante 4 minutos se evaluó el tiempo de movilidad, inmovilidad y episodios de inmovilidad. |

Tabla 4. Descripción de las pruebas conductuales.

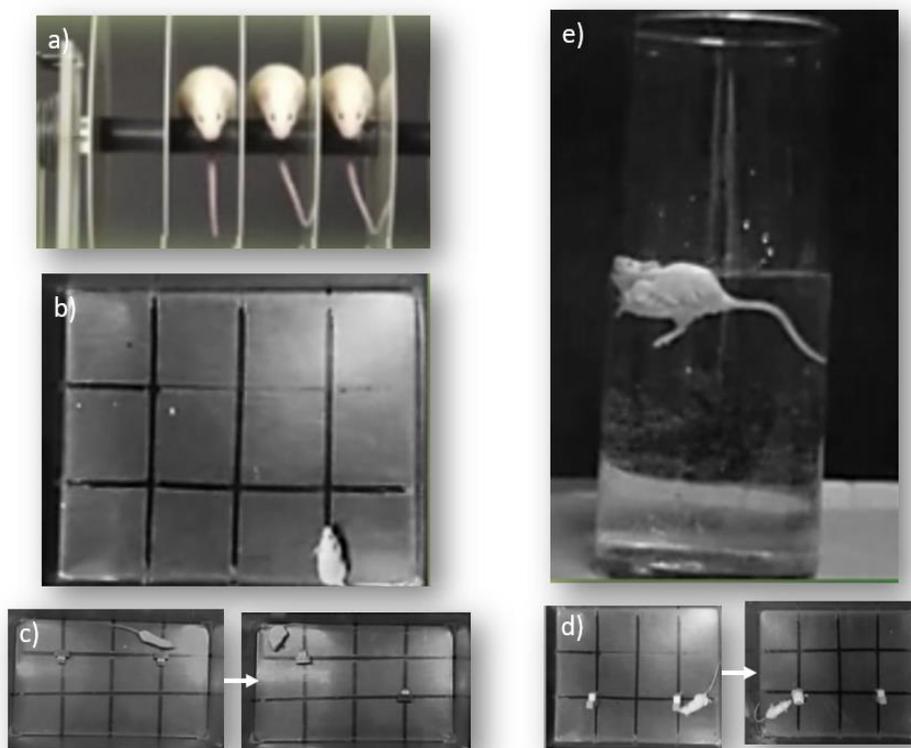


Fig.4. Representación gráfica de las pruebas de a) ROTAROD, b) Campo abierto, c) Localización de objeto novedoso, d) reconocimiento de objeto novedoso y e) nado forzado.

Las pruebas fueron videograbas y analizadas con el programa de análisis computarizado ANY-MAZE y de manera manual con cronómetro. Posterior a las dos horas desde la última prueba conductual, los animales fueron sacrificados por decapitación para la obtención de encéfalos, los cuales se sumergieron en paraformaldehído al 4% y preservados en una solución de sacarosa al 30% hasta su uso en los protocolos de IH.

6.2. Tinción por Golgi-Cox

Para esta metodología se utilizó el FD Rapid Golgi Stain Kit (FD Neurotechnologies, INC.). Los hemisferios seccionados se enjuagaron en agua Milli Q para eliminar restos de sangre. Posteriormente se colocó el tejido directamente en la solución A/B durante las primeras 24 hrs., y reemplazado por la misma (durante dos semanas) en completa oscuridad y a temperatura ambiente. Al término de este tiempo, se cambió el tejido a la solución C, primero por 72 hrs., y después por una semana completa. En este punto, con hielo seco se realizaron los cortes a 200 μm (-20 °C) en el micrótopo deslizante (LEICA SM2010R). Para el proceso de tinción, se utilizó la solución A+D (1:1) con agua Milli Q durante 10 min. Para deshidratar, se utilizó etanol al 75% y al 96%. Para el montaje de los cortes en el portaobjetos se utilizó el medio New Mount (Sigma Aldrich).

6.3 Inmunohistoquímica (IH)

6.3.1. Protocolo para DCX y Ki67

Día 1: Las secciones coronales de 40 μm se lavaron en TBS 1x pH 7.5 durante 10 minutos. A continuación, se realizó el bloqueo de las peroxidasas endógenas en una solución al 0.6% de H_2O_2 / TBS durante 30 minutos. Para la exposición de los sitios antigénicos, se colocó el tejido en buffer de citratos (10 mM, pH 6.0) con Tween al 0.05% en un baño maría a 90 °C por 30 minutos. Tras lo cual se realizaron

lavados en TBS durante 15 minutos. En una caja de cultivo de 12 pozos se sumergió el tejido con TBS-Plus durante 30 minutos para el bloqueo de proteínas y en continua agitación (75 rpm) a temperatura ambiente. Posteriormente se colocaron los anticuerpos primarios con TBS-Plus en incubación por 48 horas a -4 C° y agitación permanente a 90 rpm.

Día 2: Se retiró la solución de anticuerpo primario y se realizaron lavados con TBS de 15 minutos cada uno a 90 rpm. Los anticuerpos secundarios se colocaron en TBS-Plus y se dejaron en incubación a temperatura ambiente por dos horas. Al finalizar este periodo se realizaron con TBS durante 30 minutos, durante este tiempo se preparó la solución ABC con TBS en proporción 1:1 (9µL A y 9µL B / 1 mL TBS) (VECTASTAIN® Elite ABC-Peroxidase KIT) y a temperatura ambiente. Al finalizar los lavados, se colocaron los cortes en la solución ABC durante 1 hora a 80 rpm; posteriormente se realizaron lavados con TBS durante 15 minutos (agitación continua). Para revelar los marcajes, se preparó una solución de DAB-Niquel- H₂O₂ (500 µL por pozo) y se dejó reaccionar por 10 minutos (hasta percibir la señal en el microscopio). Finalmente se realizaron enjuagues con agua destilada y TBS. Para el montaje se utilizó el medio New Mount.

| Tipo | Anticuerpo 1° | Anticuerpo 2° |
|-----------------------|---|--|
| BrdU | Anti BrdU J1793, Ratmab 1:250 | Biotinilado Rata 1:250 |
| Doblecortina (DCX) | Anti-cobayo Ab2253, Merck-Millipore 1:500 | Biotinilado de burro anti-cobayo 1:250 |
| Ki67 | Anticonejo Biogenex EPR3611 1:150 | HRP- conejo 1:250 |

Tabla 6. Anticuerpos primarios y secundarios utilizados para las pruebas de inmunohistoquímica.

6.3.2 Protocolo para bromodesoxiuridina (BrdU)

El protocolo del Día 1 para BrdU cambia posterior al enjuague en buffer de citratos y se utiliza HCl 2N a 37 C° en baño maría durante 30 minutos y dos lavados en buffer de boratos 0.1 M, pH 8.5 durante 10 minutos. Los enjuagues previos al bloqueo se realizaron 4 veces con duración de 10 minutos cada uno a 90 rpm. El procedimiento para el Día 2 no se modifica.

6.4 Microfotografías y procesamiento de imágenes

Se utilizó un microscopio *Leica* ICC50 con una cámara integrada. De cada laminilla se tomaron las fotografías necesarias para cubrir por completo el giro dentado del hipocampo, se utilizaron los objetivos de 10x y 40x para la cuantificación de BrdU, DCX, Ki67 e Iba-1. La cuantificación de las espinas dendríticas se realizó manualmente con el microscopio *Leica* ICC50 y el software *Leica Application Suite* 3.4.0 en los aumentos 4x, 10x y 40x.

7. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados como la media \pm la D.E. de $n=7$. Se utilizó análisis de varianza de una y dos vías (ANOVA) con una prueba *post hoc* de Bonferroni. Se utilizaron los paquetes estadísticos *SigmaPlot12* y *GraphPadPrisma 5.01* para la elaboración de gráficos. Se consideró una $p<0.05$ estadísticamente significativa.

8. Resultados

8.1 Inmunohistoquímica (BrdU, Ki67 y DCX) y Golgi Cox

Para comprobar el efecto de la pioglitazona en eventos asociados con la proliferación celular, supervivencia y estadios intermedios se realizó el marcaje de los siguientes marcadores: Ki67, BrdU y DCX. En la figura 5A, se muestra el marcaje para Ki67. La cuantificación de este marcador no reveló diferencias significativas entre grupos ($F(3,15)=1.285$, $p=0.3157$). Respecto a las células que incorporaron la BrdU al inicio del tratamiento pero que se analizaron después del día 16 de tratamiento con PGZ (figura 5B) tampoco existieron cambios estadísticamente significativos respecto al grupo VEH ($F(3,15)= 0.6002$, $p=0.6248$).

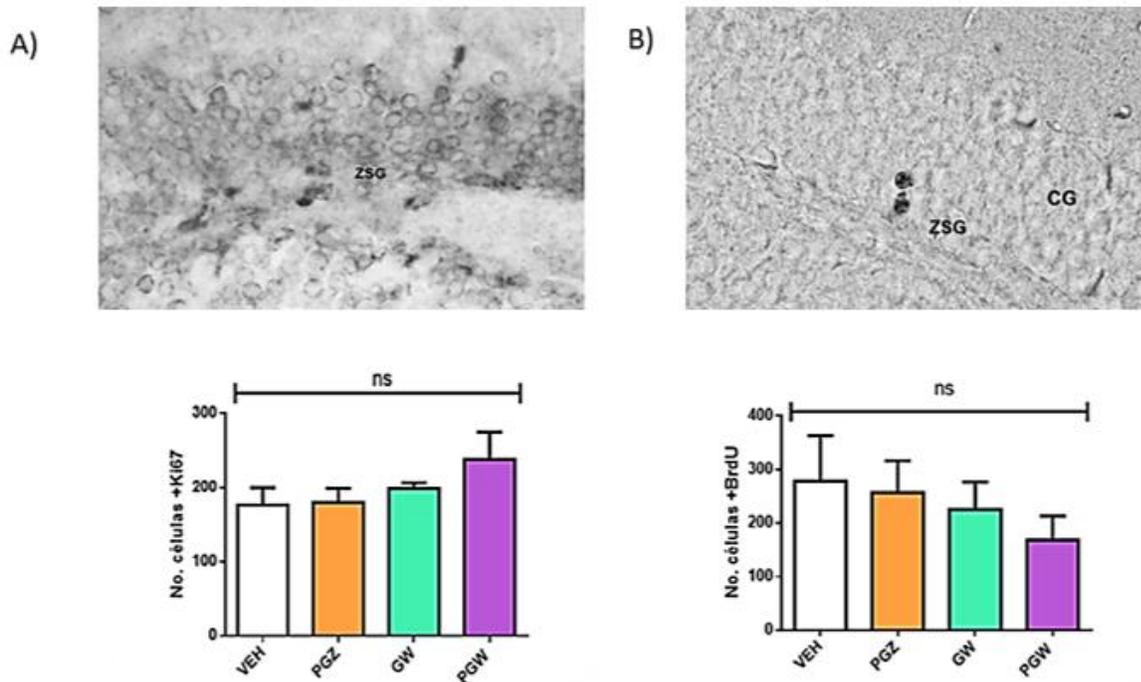


Fig.5. La pioglitazona no modifica la proliferación en el giro dentado del hipocampo dado por los marcadores Ki67 y BrdU (10x). A). Marcador Ki67: Sin diferencias entre grupos *ns*, $F(3,15)= 1.285$, $p=0.3157$. Fig. B). Marcador BrdU: Sin cambios en la expresión *ns*, $F(3,15)= 0.6002$, $p=0.6248$. Anova de 1 vía *posthoc* Bonferroni.

Se realizó el análisis de las células positivas a doblecortina, proteína asociada con la migración y que se expresa tanto en neuroblastos como en neuronas inmaduras (Plumpe *et al.*, 2006). La imagen de la figura 6A muestra que las células positivas a DCX están distribuidas a lo largo del giro dentado del hipocampo. Además, muestra que la DCX se distribuye en el soma y en las dendritas que proyectan hacia la capa molecular. La cuantificación de las células positivas a DCX indicó que los ratones tratados con PGZ tienen más células que el grupo control estadísticamente diferente (** $p=0.002$). En cambio, aquellos ratones que fueron tratados con el inhibidor de los PPARgamma, el compuesto GW9662 en conjunto con la PGZ mostró menor número de células positivas a DCX que el grupo tratado con PGZ (** $p<0.001$). De la misma manera, el grupo tratado sólo con el GW9626 presentó un menor número de células positivas respecto a la PGZ (** $p=0.001$). Estos resultados sugieren que la PGZ incrementa el número de células positivas a DCX a través del involucramiento de los PPARgamma.

Respecto a la categorización de la morfología dendrítica de las células positivas a DCX descrita por Plumpe *et al.*, (2006) se observó que respecto al grupo control, los ratones tratados con PGZ presentan un mayor número de células correspondientes a las categorías “A” (** $p=0.017$) y a las células que tienen una mayor complejidad dendrítica que corresponden a la categoría “F” (** $p<0.001$). También, se observó que en aquellos ratones que además de la PGZ, recibieron el inhibidor, se previno el incremento en células de las categorías “A” y “F” (# $p=0.048$, ### $p<0.001$; respectivamente). Este resultado sugiere que además de incrementar el número total de células positivas a DCX, la PGZ favorece la maduración dendrítica.

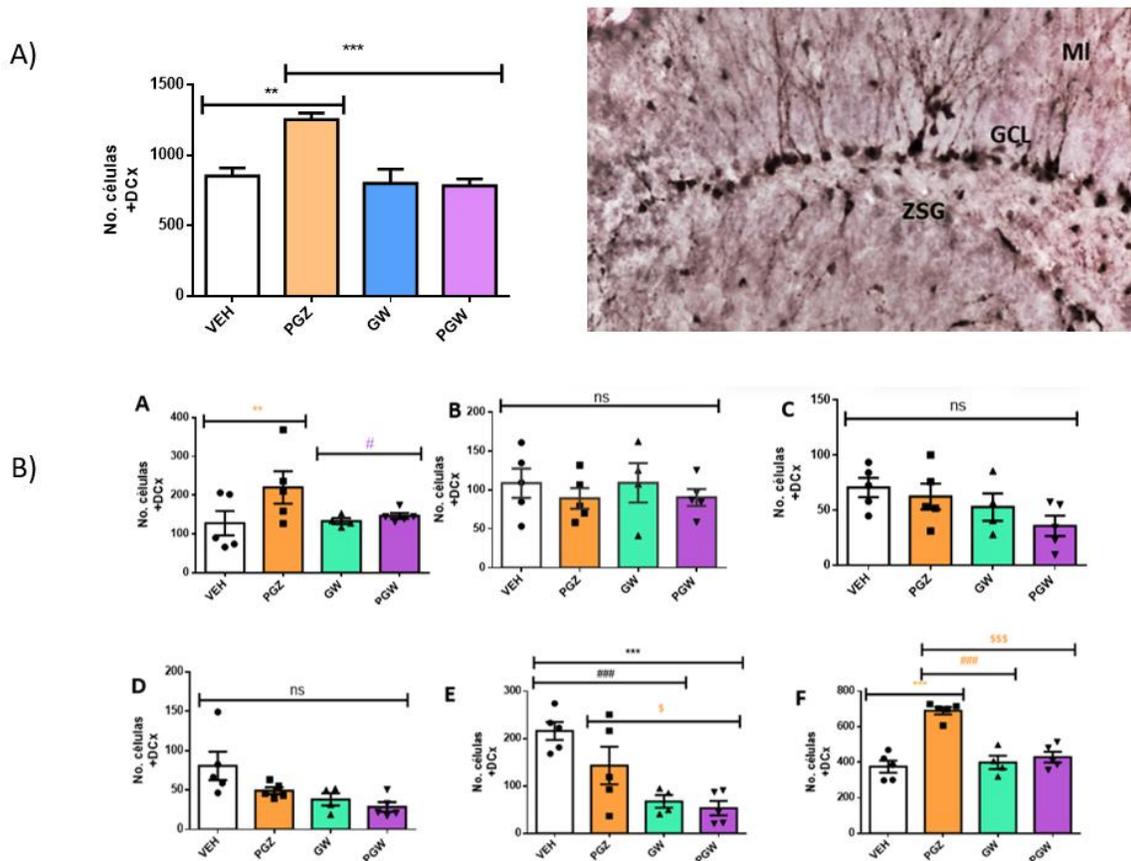


Fig. 6. Efecto de la pioglitazona en el marcador de neuronas inmaduras por DCX.: A. Número de células totales +DCX en el hipocampo (10x). PGZ vs VEH (**0.002), PGZ vs GW (**0.001) y PGZ vs PGW (**<0.001). Anova 1 vía *posthoc* Bonferroni, $F(3,14)=15.977$, $p<0.001$. Fig. B. Tipos de clasificación de DCX. Tipo A: PGZ vs VEH (** $p=0.017$); PGZ vs GW (#0.048). Tipo B, C y D: Sin diferencias significativas entre grupos. Tipo E: VEH vs PGW (** $p<0.001$); VEH vs GW (### $p<0.001$); PGZ vs PGW (\$ $p=0.022$). Tipo F: PGZ vs VEH (**<0.001); PGZ vs GW (### $p<0.001$); PGZ vs PGW (\$\$\$ $p<0.001$). Anova 2 vías *posthoc* Bonferroni, $F(15,90)=9.368$, $p<0.001$).

Una vez que se observó que la PGZ favorece la maduración dendrítica de las nuevas neuronas se procedió a realizar el análisis de otro aspecto de la neuroplasticidad que también ocurre en el giro dentado y que es la cuantificación de las espinas dendríticas evidenciadas después del método de Golgi Cox. En la figura 7a se presentan imágenes representativas de las células granulares y aproximación a una dendrita secundaria. Los ratones tratados con PGZ mostraron un aumento significativo en comparación con el grupo control (** $p=0.006$) y este incremento se previno con el inhibidor de los PPARgamma (* $p=0.005$). Respecto a la comparación del efecto de la PGZ en cada una de las categorías: “stubby”, “thin” y “mushroom”

(Fig.8b) reveló que la PGZ favorece el incremento en aquellas espinas de tipo hongo con mayor predominancia en el grupo PGZ ($p < 0.0023^{**}$), aunque este efecto no se previno por la administración del inhibido de los PPARgamma. Estos resultados sugieren que la PGZ promueve la formación de espinas dendríticas a través de la participación de los PPARgamma, así como la maduración de espinas en las células granulares del giro dentado.

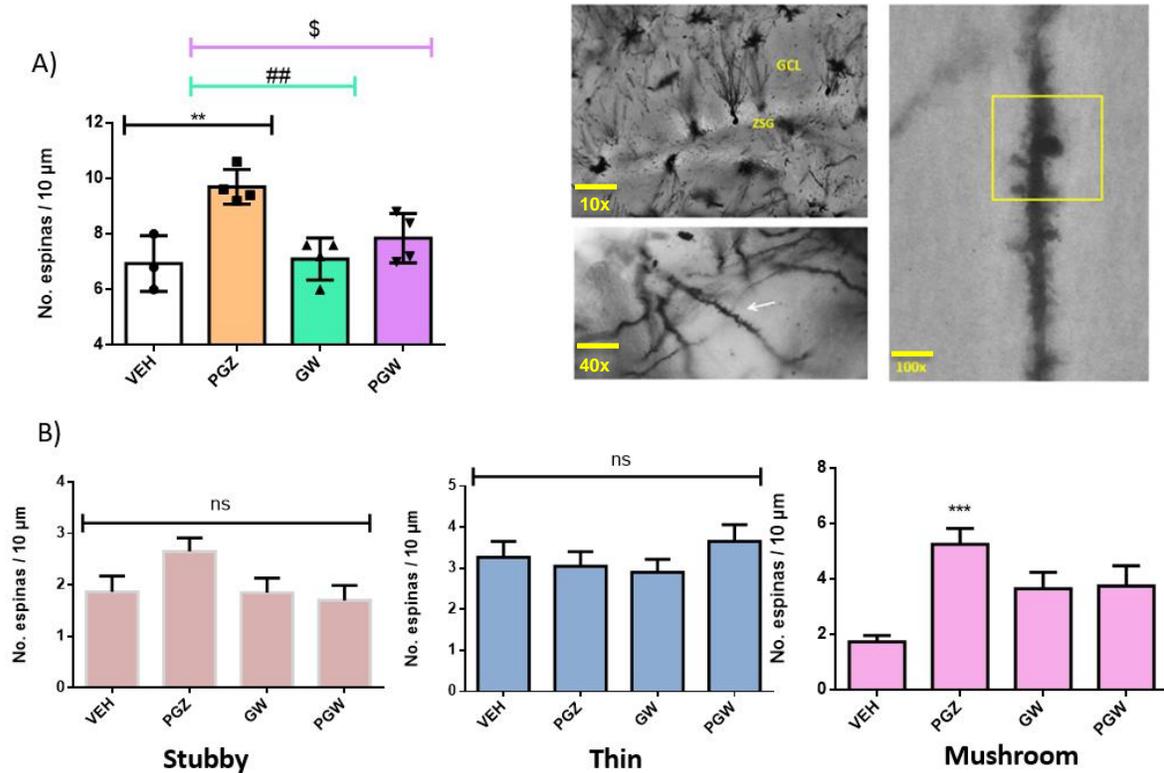


Fig.7. La PGZ modifica las espinas dendríticas en el hipocampo: A) Número de espinas dendríticas en 10 µm: PGZ vs VEH (** $p=0.006$); PGZ vs GW ($\#\#p=0.005$); PGZ vs PGW ($\$0.049$) (10x, 40x y 100x). C) Clasificación de espinas dendríticas: Stubby $F(3,71)=2.369$, $P=0.779$. B) Thin $F(3,71)=0.8343$, $P=0.4795$. C) Mushroom $F(3,71)=5.333$, $P=0.0023^{**}$). Anova 1 vía *posthoc* Bonferroni ($F(3,11)=9.236$, $p=0.002$).

8.2. Pruebas conductuales: ROTAROD, campo abierto, LON/RON, supresión de alimento y nado forzado

A continuación, analizamos si los efectos de la PGZ sobre las células positivas a DCX y sobre espinas dendríticas ocurren en paralelo con efectos sobre diversas pruebas conductuales que apuntan hacia la participación de las nuevas neuronas y un mejoramiento cognitivo o bien a la prevención del desarrollo de conductas tipo ansiosas o depresivas.

La figura 8 muestra los resultados obtenidos en las fases 1, 2 (habitación) y 3 (prueba) de la prueba de **coordinación motora**, ROTAROD. La gráfica señala que los ratones de los diferentes grupos no mostraron alteraciones en su coordinación motora ya que permanecieron durante un tiempo similar en el cilindro ($F(2,81)=5.704, p=0.005$).

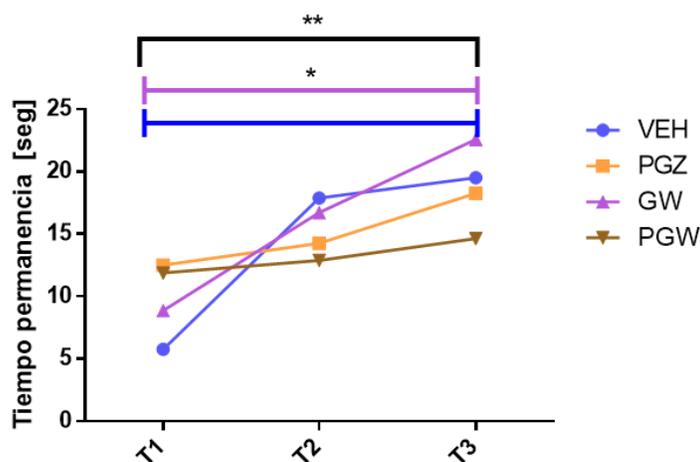


Fig. 8. Prueba ROTAROD para evaluar locomoción: T3 vs T1 (** $p=0.003$). Entre grupos: VEH, T3 vs T1 (* 0.031). Grupo GW, T3 vs T1 (* 0.049). $F(2,81)=5.704, p=0.005$. Anova de 2 vías *posthoc* Bonferroni

Para corroborar los hallazgos en el rotómetro aplicamos la prueba de campo abierto (Fig. 9). Los resultados relacionados con las entradas al centro revelaron una reducción en el grupo PGZ vs VEH ($p=0.024^*$) pero sin cambios respecto al tiempo en el centro ($ns F(3,27)=3.406, 0.032$). Sin embargo, el índice calculado con relación al tiempo en el centro y periferia mostró que no hay alteraciones en ninguno de

los grupos corroborando que los tratamientos **no afectan la actividad motora** de los ratones (*ns* $F(3, 27)=0.1484, 0.9298$):

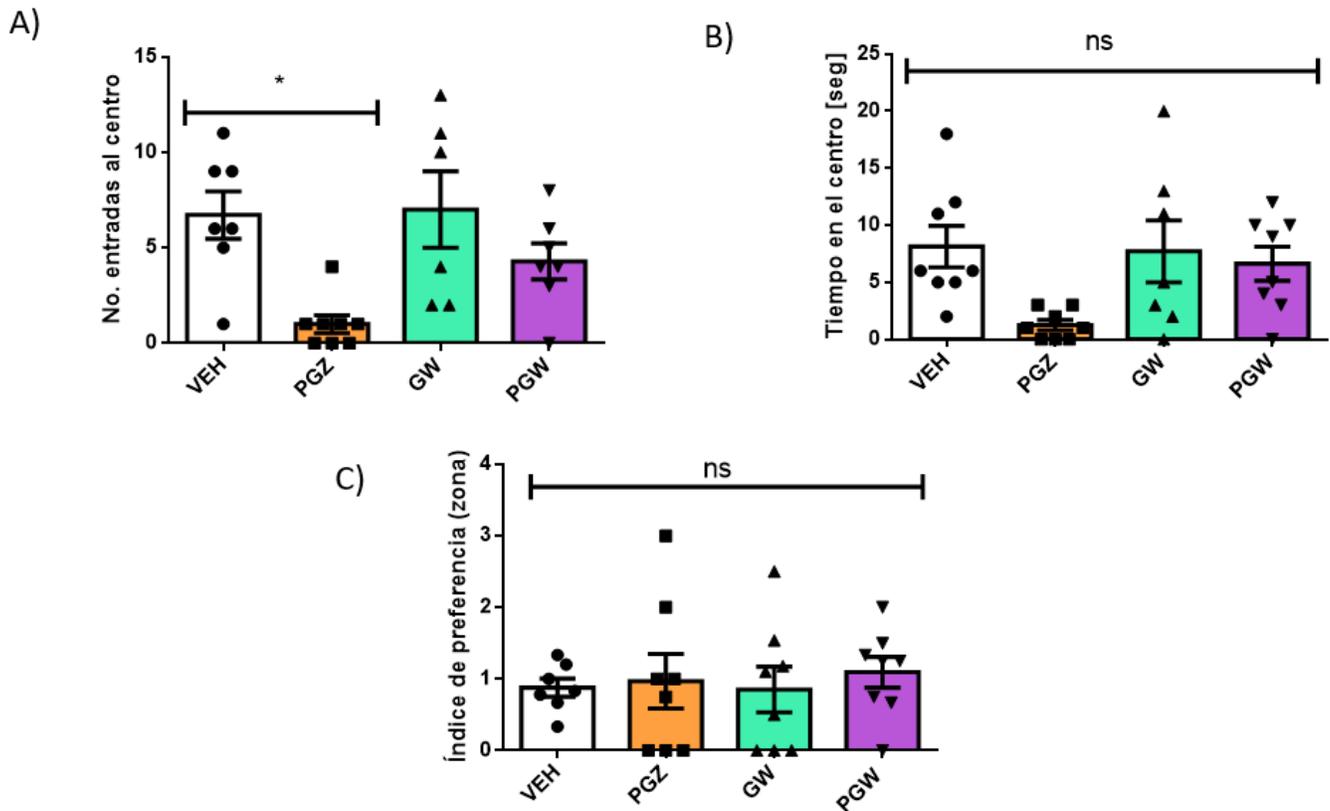


Fig. 9. Prueba de campo abierto para **evaluar ansiedad y locomoción**: A) No entradas al centro, VEH vs PGZ (* $p=0.024$) $F(3,25)=5.794, 0.004$. B) Tiempo en el centro sin cambios, *ns* $F(3,27)=3.406, 0.032$. C) índice de preferencia centro/periferia como *ns* $F(3, 27)=0.1484, 0.9298$.

La figura 10 muestra los resultados de la prueba de localización de objeto novedoso (LON). Esta **evalúa la memoria espacial dependiente de hipocampo, así como la memoria a corto y largo plazo**. Para ello, el animal es expuesto a una fase de habituación en un campo abierto y posteriormente expuesto a dos objetos similares (Objetos familiares). Una vez que se ha realizado esta fase de entramiento, el roedor se expone a los objetos, con la diferencia de que uno se ha movido a una dirección diferente a la inicial. En este paradigma, si el animal recuerda la localización de los objetos en su fase inicial, estos pasan mayor tiempo investigando el objeto que se

ha movido (Objeto novedoso). El panel 10A, muestra que no hubo diferencia en el tiempo de exploración entre los grupos ni en el índice de discriminación (preferencia por el objeto familiar o novedoso) (10B) ($F_{3,27}=1.36$, n.s., $F_{3,27}=0.93$, n.s.).

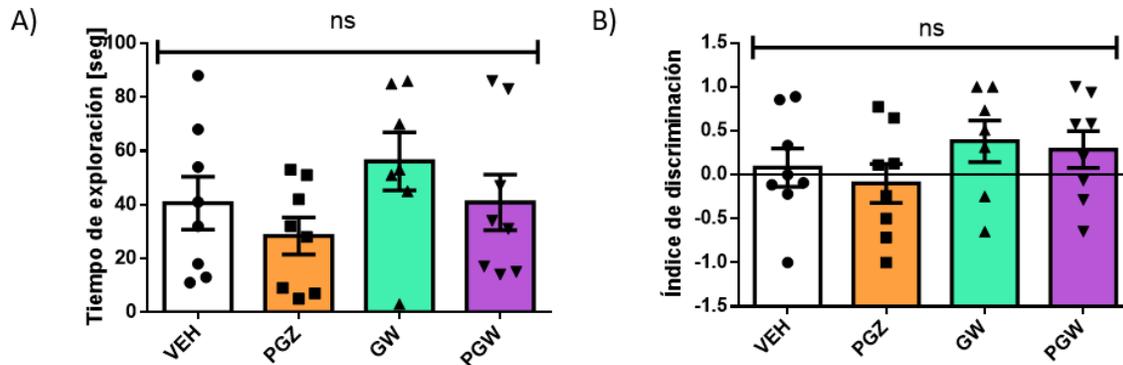


Fig. 10. En la prueba de LON se evaluaron los siguientes parámetros: A) Tiempo de exploración total por grupos ns, $F(3,27)=1.368$, 0.274. B) Índice de discriminación/preferencia como ns, $F(3,27)=0.9304$, 0.4395.

El paradigma de *reconocimiento de objeto novedoso* es ligeramente parecido al de localización, también se **evalúa la memoria espacial, de corto y largo plazo y el aprendizaje no asociativo**. En este caso se lleva a cabo el mismo número de fases y duración. Sin embargo, los objetos sí cambian de apariencia. En la fase de entrenamiento, se colocan dos objetos similares en la misma posición, una vez que han sido explorados por el roedor, uno de los objetos se cambia por uno completamente diferente (color, textura, tamaño). Los parámetros a medir son similares a los de la prueba de localización de objetos. El tiempo de exploración ($F_{3,27}=2.714$, 0.0646) (Fig. 11C) y el índice de discriminación ($F(3,25)=1.062$, 0.383) (Fig. 11D) no fueron alterados en ninguno de los grupos.

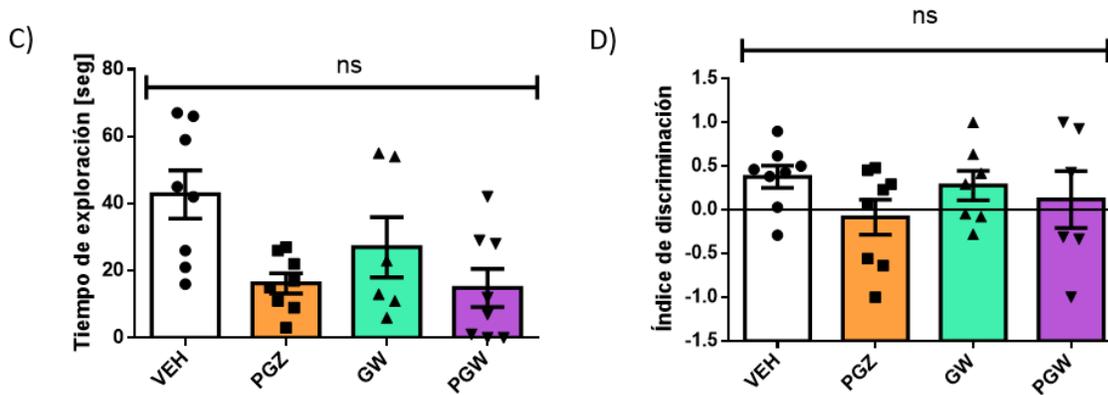


Fig. 11. Para la prueba de RON se evaluó : c) Tiempo de exploración total por grupo ns, $F(3,27)=2.714$, 0.0646. d) Índice de preferencia ns, $F(3,25)=1.062$, 0.383.

Para evaluar la conducta de **motivación** se registró el consumo de alimento en la prueba de supresión de alimento (en inglés como “novelty suppressed feeding”). Esta prueba evalúa la motivación en los sujetos experimentales después de la de restricción de alimento por 12 hrs. En esta prueba, se evaluó la latencia para empezar a consumir alimento (*ns*, $F(3,27)= 0.987, 0.414$). Para lo cual se encontraron diferencias significativas entre los grupos VEH y PGZ (** $p=0.003$); VEH vs PGW (# $p=0.025$); GW vs PGZ ($p=0.048$) $F(3,27)= 6.646, 0.002$. Esto nos indica, que el grupo con PGZ está consumiendo menos alimento (12A), sin embargo, cuando se compara este parámetro con el peso (*ns*, $F(3,27)=1.366/0.2743$) (Fig.12B) y la latencia al centro (*ns*, $F(3,27)= 0.987, 0.414$) (Fig. 12C), vemos que no se está presentando un patrón conductual tipo depresivo.

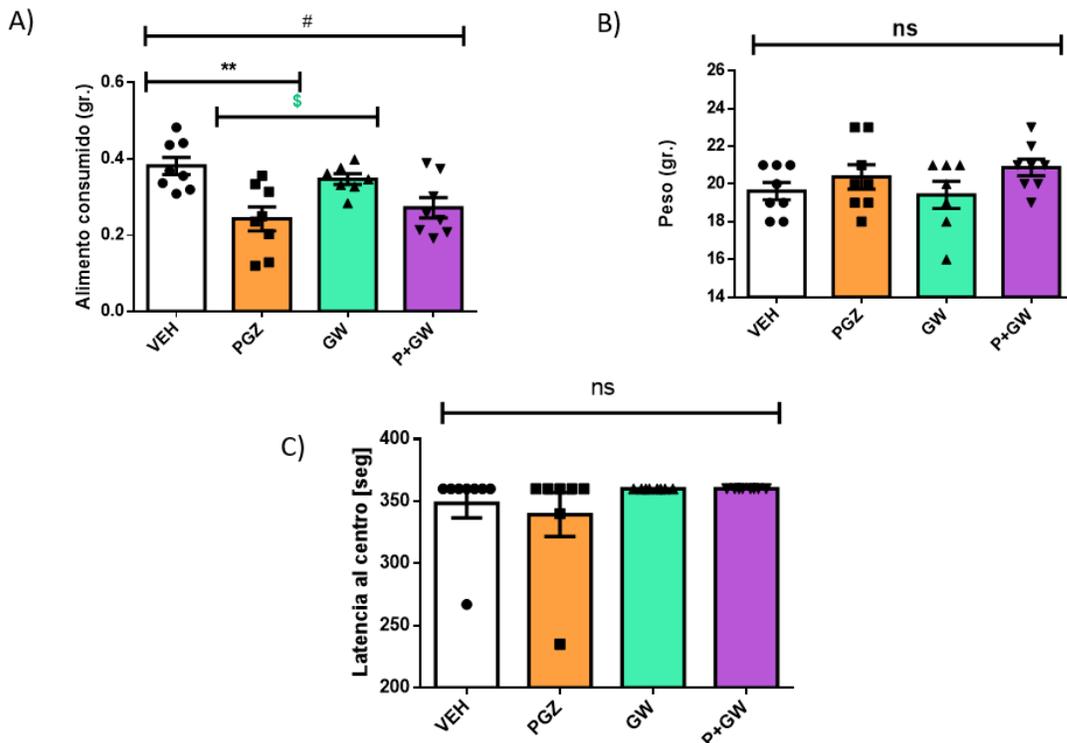


Fig. 12. Prueba de supresión de alimento: A) Alimento total consumido en la fase 2 de la supresión de alimento: VEH vs PGZ (** $p=0.003$); VEH vs PGW (# $p=0.025$); GW vs PGZ ($p=0.048$) $F(3,27)= 6.646, 0.002$. B) Peso al final de la prueba *ns*, $F(3,27)=1.366/0.2743$. C) Latencia al centro sin cambios en los grupos experimentales *ns*, $F(3,27)= 0.987, 0.414$. Anova de 1 vía *posthoc* Bonferroni.

La prueba de nado forzado se aplicó para evaluar conductas tipo depresivas como la desesperanza (Fig. 13). En esta prueba se somete a los animales a una situación en la que no pueden escapar, por lo tanto, su conducta principal es la inmovilidad (flotando con mínimos movimientos para mantener la cabeza por arriba del nivel del agua) (Bourin *et al.*, 2003). Aquí el parámetro refleja que a mayor tiempo inmóvil el animal presenta un aumento en la desesperanza, lo cual se relaciona a una conducta tipo depresiva. El análisis de los resultados mostró que en ninguno de los parámetros evaluados existieron diferencias estadísticamente significativas (inmovilidad: *ns* $F(3,25)= 2.657, 0.0703$; episodios de inmovilidad: *ns* $F(3,25)=1.437, 0.2556$; latencia del primer evento de inmovilidad: *ns* $F(3,25)= 0.3209, 0.8102$) ó, en el tiempo de movilidad: *ns*, $F(3.25)=2.657, 0.070$). Este resultado indica que la PGZ no altera la conducta de desesperanza en las ratonas de la cepa Balb/C.

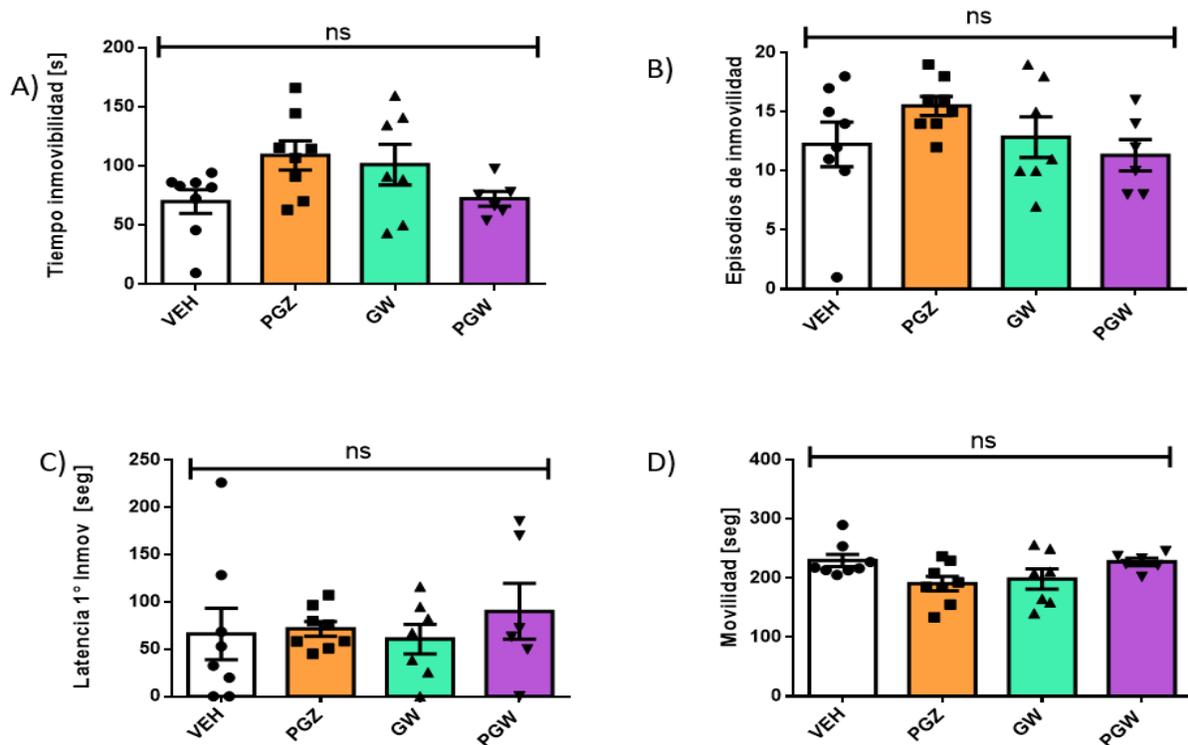


Fig. 13. Parámetros evaluados en la prueba de nado forzado (Porsolt Test): a) Tiempo de inmovilidad total por grupo, *ns* $F(3,25)= 2.657, 0.0703$. b) Episodios de inmovilidad, *ns* $F(3,25)=1.437, 0.2556$. c) Latencia al primer movimiento de inmovilidad, *ns* $F(3,25)= 0.3209, 0.8102$. d) Movilidad total en los grupos, *ns* $F(3.25)=2.657, 0.070$.

9. Discusión

La pioglitazona es un fármaco sensibilizador a la insulina utilizado para el tratamiento de la *diabetes mellitus* tipo II con beneficios a nivel lipídico y sobre eventos cardiovasculares actuando a través de los PPARgamma (Goldberg *et al.*, 2005; Lincoff *et al.*, 2007). En el cerebro, los PPARγ poseen una distribución regional con altos niveles de expresión en la corteza piriforme, tubérculo olfatorio, ganglia basal, tálamo, formación reticular y corteza cerebelar. Mientras que en áreas dopaminérgicas la colocalización con tirosina hidroxilasa de los PPARγ ha sido reportada en la sustancia nigra pars compacta (SNc) y el área ventral tegmental (Carta *et al.* 2011a; Sarruf *et al.*, 2009). En el hipocampo, la expresión de PPARγ se localiza en el giro dentado (Braissant *et al.*, 1996). Sin embargo, el papel de los PPARγ en la proliferación y diferenciación de las células madre neurales en murino es controversial. Algunos trabajos sugieren que los PPARγ inhiben la diferenciación neuronal (Lee *et al.*, 2010; Wada *et al.*, 2006). Al contrario, los trabajos de Morales-García *et al.*, 2011 y Quintanilla *et al.*, 2014 mencionan que la PGZ regula la proliferación y diferenciación celular en ratas. En este estudio se encontró que la PGZ impacta sobre los estadios intermedios de la neurogénesis identificados con la expresión de la proteína DCX. La DCX es una proteína asociada a microtúbulos, utilizada como marcador para neuroblastos en división y de neuronas inmaduras, su expresión comienza en las fases iniciales de la diferenciación neuronal y persiste en estados más avanzados, como la ramificación de dendritas (Brown *et al.*, 2003; Couillard-Despres *et al.*, 2005). Está reportado que la densidad de células positivas a DCX disminuye desde el nacimiento hasta la primera década de vida (Knoth *et al.*, 2010). Sin embargo, este es uno de los marcadores más utilizados para determinar cambios en la neurogénesis del giro dentado del hipocampo. En el presente trabajo se encontró que la PGZ no afecta la proliferación o la supervivencia celular después de 16 días de tratamiento a diferencia de lo descrito en los trabajos de Bonato *et al.*, 2018, en el que se observó que la PGZ aumenta el número de células positivas a BrdU diferenciadas a neuronas (BrdU/NeuN) en el hipocampo de roedores dañados

por 6-OHDA, lo cual indica que la PGZ estimula la diferenciación de células progenitoras en neuronas. Por otra parte, la 6-OHDA disminuye las células positivas a DCX en su fase proliferativa con un incremento en el porcentaje en la fase postmitótica. Esta aceleración de la maduración neuronal en el hipocampo sería necesaria para facilitar la conectividad sináptica y la integración de las neuronas al circuito hipocampal. Lo anterior es vital para reparar y recuperar la funcionalidad cerebral tras un daño provocado por la 6-OHDA. Por otra parte, el trabajo de Liu *et al.*, 2018 evidenció que animales tratados con una dieta normal y bajo tratamiento con PGZ mostraron disminución en la proliferación, diferenciación y supervivencia neuronal. Aunque el número de nuevas neuronas maduras en el giro dentado no se ve modificada por la aplicación de PGZ durante 14 días (Liu *et al.*, 2018).

Respecto a la participación de los PPARgamma en los efectos de la PGZ sobre la neuroplasticidad en los roedores Balb/C se puede sugerir que de acuerdo con el Allen Brain Atlas, el mensajero que codifica para los PPARgamma se encuentra en la capa granular, así como en la zona subgranular del giro dentado de ratones C57Bl6/J (Fig. 14) hecho que permite sugerir la expresión de éstos mensajeros en poblaciones celulares involucradas en los estadios iniciales e intermedios de la neurogénesis para que pueda favorecer, al menos en los ratones de la cepa Balb/C el incremento en el número de células positivas a DCX y su maduración dendrítica aunque esto es especulativo debido a que no realizamos co-marcajes de las PPARgamma con proteínas expresadas en las células tipo 2a, 2b, 3, en neuronas inmaduras o en neuronas maduras (Kempermann *et al.*, 2003). Respecto a las neuronas maduras, no podemos descartar que en las células granulares la PGZ, a través de los PPARgamma esté favoreciendo el incremento en el número y en la maduración de las espinas dendríticas. Aunque en otra cepa de ratones, C57Bl6/J hemos encontrado que la PGZ actúa incrementando diferentes eventos del proceso neurogénico (proliferación, supervivencia, estadios intermedios y maduración neuronal) (datos no presentados).

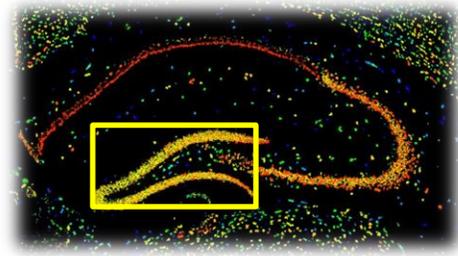


Fig. 14. Expresión de los PPARgamma en el giro dentado del hipocampo (Tomado de Allen Brain Atlas, 2020).

Finalmente, los resultados sugieren que los PPAR γ podrían estar regulando el número de células madre neurales al intervenir en su división celular (Reynolds y Weiss, 1996). Por lo que la activación del PPAR γ estimula la capacidad de mantener la población neuronal, estos presentan una función dual en las células madre neurales: proliferación y diferenciación, lo cual sugiere que los ligandos de los PPAR γ no sólo son mitógenos de las células troncales, sino que inducen estos procesos. Por lo cual, la activación de los PPAR γ es altamente requerida para que la PGZ genere la regulación de la neurogénesis en un cerebro sano y en aquellos con daño (infecciones, enfermedades neurodegenerativas) (Grommes *et al.*, 2006; Kemp *et al.*, 2014).

Las espinas dendríticas son pequeñas protuberancias que reciben entrada de una sola terminal presináptica excitatoria, permitiendo la regulación de la intensidad sináptica. Estas espinas se encuentran distribuidas de 1-10 espinas por micrómetro de longitud. Las neuronas cuentan con miles de espinas a través de los árboles dendríticos. La morfología de estas singulares estructuras se ven alteradas por la actividad neuronal (Roberts *et al.*, 2010). Los patrones de actividad que inducen la LTP, uno de los mecanismos que subyacen el aprendizaje y memoria, genera el alargamiento de la cabeza de las espinas, sugiriendo así, cambios en la morfología de la espina y el rol en la formación de las memorias (Kasai *et al.*, 2003). Algunas vías involucradas en el desarrollo de las espinas dendríticas son la PI3K/Proteína cinasa B (AKT)/mTOR, Wnt/b-catenina y Rho A (Jaworski *et al.*, 2005). En particular la PI3K/Akt presente en la sinapsis media la plasticidad sináptica y elongación

dendrítica (Tsokas *et al.*, 2005). A pesar de presentar baja permeabilidad a la barrera hematoencefálica, la PGZ puede ingresar y generar cambios a nivel del SNC, así como favorecer el paso de sustancias (Gromes *et al.*, 2013; Low *et al.*, 2020).

Uno de los resultados más importantes de este trabajo es que la PGZ modifica el número de espinas dendríticas totales, cuyos valores son significativos respecto al grupo VEH. Por otra parte, la clasificación del tipo de espinas dendríticas arrojó que existe una mayor presencia de las espinas conocidas como tipo hongo y que representan el estado de mayor maduración de estas estructuras. Uno de los factores que podría estar regulando la PGZ para modificar la morfología de las espinas dendríticas es la función mitocondrial (Feinstein *et al.*, 2005; Hondares *et al.*, 2006). Ya que la actividad de este organelo es indispensable para mantener los micro dominios a nivel axonal y de espinas dendríticas en respuesta a la demanda metabólica (Li *et al.*, 2004). Perturbaciones en el tráfico de la mitocondria a los sitios apropiados podría causar fallas energéticas sobre la sinaptogénesis y por lo tanto en la formación de memorias (Li *et al.*, 2004; Sullivan y Brown, 2005). Por lo anterior, las TZD pueden ejercer un efecto directo y rápido en la respiración mitocondrial que deriva en cambios del metabolismo glucolítico. Los PPAR γ favorecen la extensión de procesos y maduración celular, visto en trabajos con líneas celulares B12 de oligodendrocitos de medula espinal y cuyo efecto es revertido por el inhibidor GW9662 (Bernardo y Minghetti, 2008). La potenciación de largo término (en inglés LTP) es crucial para el aprendizaje y memoria dependiente de hipocampo y que forma parte de la plasticidad sináptica. En un modelo de Alzheimer, con ratones APP/PS1, se logró obtener que la PGZ inhibe la actividad de Cdk5 recuperando la LTP en las regiones CA1 y CA3 (Ondrey, 2009).

Otro factor que puede estar involucrado en el efecto de la PGZ sobre la maduración y estructura de las espinas dendríticas es el factor neurotrófico derivado del cerebro (en inglés BDNF), miembro de la familia de las neurotrofinas que juega un papel importante en la supervivencia, mantenimiento y crecimiento de neuronas,

Asimismo, participa en la modulación de la función sináptica y la plasticidad, interviniendo así en procesos de aprendizaje y memoria (Connor et al. 1997). La neurogénesis hipocampal es importante para el mantenimiento de la red neural preexistente y es controlado por BDNF (Babu *et al.*, 2009; Ortíz-López *et al.*, 2017), este juega un papel importante en el mantenimiento de la plasticidad sináptica y se ha visto que la PGZ incrementa la expresión de progenitores neurales y de marcadores neuronales maduros en células madre embrionarias de ratón (Esmaeili *et al.*, 2016).

El mecanismo por el cual la PGZ restaura los niveles de BDNF en hipocampo son desconocidos, pero se puede asumir lo siguiente: el BDNF protege a las neuronas hipocampales contra la inflamación inducida por diferentes mediadores como el NO. Esta actividad se ve pronunciada por aumento de enzimas antioxidantes como el superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa que protegen de la acción de los radicales libres. Asimismo, BDNF repara las neuronas mitocondriales dañadas y promueve la regeneración nerviosa. Por lo que agonistas como la PGZ ejercen un efecto neuroprotector mediante la regulación de esta neurotrofina (Ferrer *et al.*, 2001; Brandolic *et al.*, 1998). Esta aseveración requiere ser determinada en estudios futuros para cuantificar el BDNF en el hipocampo después del tratamiento con PGZ.

Es importante resaltar que los grupos experimentales de este trabajo no fueron sometidos a un modelo daño, por lo cual, este tipo de diseño experimental se considera predictivo. Es decir, a partir de la administración de PGZ durante 16 días se procedió a evaluar el efecto de la PGZ en la conducta animal relacionada con la depresión, ansiedad y procesos de aprendizaje y memoria. Lo anterior obedece a que se ha propuesto que el aumento en el número de las nuevas neuronas ayuda a amortiguar los efectos del estrés (Snyder et al 2009) y favorece la memoria espacial (Garthe et al 2009).

En sentido de lo mencionado anteriormente, la fatiga cursa como otro de los síntomas que subyacen a la depresión, de manera que los reportes mencionan que

la disminución de la actividad motora puede ser un indicativo del desarrollo de conductas relacionadas a este trastorno (Corfiel *et al.*, 2016). En este caso, se realizó la prueba del ROTAROD, la cual permite identificar cambios en la coordinación motora del animal, pues se menciona que una menor actividad en esta prueba refleja el establecimiento de conductas tipo ansiosas y que también caracteriza a la depresión. En los trabajos de Prakash y Kumar (2013) mencionan que la administración crónica de PGZ a 30 mg/Kg no genera cambios a nivel locomotor, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo a pesar de utilizar la mitad de esa dosis (15 mg/Kg).

Una de las grandes preguntas es si el aumento en la neurogénesis del hipocampo adulto es suficiente para que los antidepresivos tengan un efecto sobre la conducta (Park *et al.*, 2007). Los individuos difieren en cuanto a la percepción y consecuencias psicológicas ante los eventos adversos de la vida. Las variables ambientales como las experiencias de estrés y factores genéticos interactúan e influyen la resistencia o vulnerabilidad para presentar desórdenes psiquiátricos (Crawley *et al.*, 1997; Gillespie *et al.*, 2009). En cuanto a los animales de laboratorio, se sabe que existen diferencias entre cepas, por lo que la reacción que estos puedan presentar depende en gran medida de la prueba conductual a la que sean sometidos (Owen *et al.*, 1997a, b; Razzoli *et al.*, 2011). Algunos ejemplos de esto son los estudios en los que ratones de la cepa C57BL6/J son resilientes al estrés, exhibiendo niveles bajos de ansiedad y menor emoción a comparación de la cepa Balb/C, considerada como sensible al estrés, ansiosa y emotiva (Shanks *et al.*, 1994; Crawley *et al.*, 1997; Belzung *et al.*, 2001). La cepa Balb/C exhibe una marcada respuesta del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA), así como una variación central de monoaminas en regiones del hipotálamo que explican la reactividad de este modelo murino (Zacharko *et al.*, 1989; Anisman *et al.*, 1998; Belzung *et al.*, 2001). Lo cual es seguido de una gran liberación de norepinefrina y serotonina ante estresores crónicos (Tannenbaum *et al.* 2002a; Tannenbaum *et al.*, 2003). Esto explica los altos niveles de ansiedad ante el estrés (agudo y crónico) de la cepa BalbC (Anisman *et al.*, 2001; Belzung y Griebel, 2001) y que determina que

este tipo de animales sean utilizados en modelos de depresión y patologías que cursan con síntomas de ansiedad, en los cuales la exposición a estresores genera respuestas conductuales muy marcadas, como la anhedonia y desesperanza (Wilner, 1997).

La neurogénesis hipocampal afecta la conducta tipo ansiosa y depresiva a través de alteraciones en el eje HPA (Schloesser *et al*, 2009; Snyder *et al.*, 2011). Parece ser que un cierto nivel de neurogénesis es requerido para el correcto funcionamiento del eje HPA, sin embargo, este tipo de efecto no es aditivo. Por otra parte, la modificación en la conducta es resultado de un mecanismo independiente del eje HPA, dado por la actividad neurogénica (Lehmann *et al*, 2013) ya que numerosos estudios han demostrado que el hipocampo dorsal y ventral tienen diferente conectividad, función y expresión génica (Fanselow y Dong, 2010; Kheirbek *et al*, 2013). A pesar de que no se observan grandes diferencias sobre la neurogénesis entre las regiones dorsal y ventral del giro dentado, existe una proporción en el número de neuronas adultas que se producen en el GD ventral, lo cual apoya la hipótesis de la neurogénesis a nivel ventral y su participación en la conducta tipo ansiosa y depresiva (Hill *et al.*, 2015). Esto podría deberse a la conectividad con otras estructuras que reciben información de la región ventral, como la amígdala y el núcleo accumbens (Canteras y Swanson, 1992; Fanselow y Dong, 2010; Namura *et al*, 1994).

La siguiente prueba que se aplicó a los grupos experimentales fue la de campo abierto durante 5 minutos. Esta prueba nos permite evaluar la presencia de conductas ansiosas, conducta exploratoria y también la locomoción. El paradigma de esta prueba reside en la aversión de los roedores a la exposición en espacios abiertos e iluminados por lo que una mayor conducta exploratoria (mayor número de entradas y tiempo en el centro) es indicativa de menor ansiedad. Mientras que la permanencia en las esquinas y de menor movilidad es un indicativo tipo ansioso. En los parámetros tomados en cuenta en este trabajo se encuentra la latencia al centro, el tiempo en ubicarse al centro por parte de los animales y el índice de

preferencia respecto al centro/periferia. En los tres parámetros se obtuvo que no hay diferencias significativas respecto al grupo VEH, a pesar de que existe una tendencia por parte del grupo PGZ en recorrer una menor distancia en el cuadrante. El número de entradas al centro por parte del grupo PGZ resulta ser mucho menor que el grupo VEH lo cual coincide con el tiempo que pasan en el centro los individuos de este grupo. Sin embargo, cuando se relaciona la zona que prefiere el roedor, centro o periferia, se determina que no hay cambios en este parámetro, por lo que nuestro modelo parece no estar desarrollando una conducta tipo ansiosa y sin fallas en la locomoción. Lo anterior se compagina con lo obtenido en la prueba del ROTAROD. Ya que en modelos de daño con LPS y 6-OHDA se ha visto que los sujetos experimentales disminuyen su actividad locomotora y desarrollan conductas ansiosas (Pinto *et al.*, 2016; Saeidienik *et al.*, 2018).

El hipocampo juega un papel muy importante en la memoria declarativa que a su vez es muy susceptible a la influencia del ambiente, el envejecimiento y la presencia de enfermedades neurodegenerativas. Por lo anterior, para la evaluación de conductas dependientes de hipocampo se emplearon dos pruebas: la prueba de localización y reconocimiento de objeto novedoso. La primera permite determinar cambios en la memoria espacial y de asociación, basándose en la tendencia de los roedores a pasar más tiempo explorando un objeto “novedoso” (ON) que el familiar (OF) (el cual el animal ya conoce) cuando este se cambia de posición. Por otra parte, el reconocimiento de objeto novedoso es similar, sólo que en este caso el objeto que anteriormente era familiar es reemplazado por otro totalmente diferente. Por lo que la decisión de explorar el objeto novedoso está determinada por el aprendizaje y memoria de este. En estudios con flavonoides como la naringenina, se ha visto que los roedores presentan una mejora en la retención de la memoria con este compuesto, por lo que los animales pasan mayor tiempo de exploración en el objeto novedoso (Rahidue *et al.*, 2012; Denninger *et al.*, 2018).

En el presente estudio y para ambos paradigmas se obtuvieron resultados similares, dentro de los cuáles resaltan que el tiempo de exploración entre los grupos

experimentales no se modificó. Por otra parte, el índice de discriminación, que indica la preferencia hacia un objeto en determinado (puede ser el OF u ON), aparentemente no presentó diferencias respecto a nuestro VEH. Sin embargo, existe una tendencia (que no es significativo) del grupo PGZ por preferir el OF, esto se contradice con los trabajos de Hussein *et al.*, 2019 en el que mencionan que la PGZ (10 y 20 mg/Kg) aumenta el índice de discriminación mayor en el ON, es decir, reconoce que se ha cambiado el objeto. En los trabajos de Ekladius y El Sayed (2019) ven una mejora en la memoria con una dosis de 20 mg/Kg. Específicamente para la prueba de RON, no se observaron diferencias significativas en el tiempo de exploración sobre el ON. Por lo cual aparentemente la PGZ podría no está influyendo en los procesos de aprendizaje y memoria.

Además, para evaluar aspectos de motivación, se utilizó la prueba de restricción de alimento durante 12hrs., en este caso, se pudieron obtener diferencias en el alimento consumido (Jeohng *et al.*, 2007). En el grupo PGZ se observó una disminución en el consumo respecto al grupo con el inhibidor GW9662. Esta conducta resulta contradictoria, ya que en la latencia para consumir el pellet no hay diferencias entre grupos y esto se observa también en el peso de los animales. Se sugiere que existe una relación entre la pérdida de peso del animal y el impulso de consumir alimento, lo cual no es observable en estos resultados (Jeohng *et al.*, 2007). Sin embargo, también hay muchas opiniones respecto a la aplicación de esta prueba, ya que probablemente el tiempo de restricción pudo no haber sido el necesario para que los animales tuvieran el impulso de comer después de 12 hrs. Por otra parte, el grupo con el inhibidor presenta diferencias respecto al vehículo y se mantiene similar al grupo con PGZ. Por lo cual, se puede afirmar que los animales no presentaron necesidad de consumir alimento al momento de realizar la prueba, por lo que esta tendencia no se considera como una conducta tipo depresiva.

La prueba de nado forzado (Porsolt Swim test) se utiliza para evaluar el efecto de fármacos antidepresivos. Este paradigma nos menciona que ante un estímulo aversivo el roedor tratará de escapar, sin embargo, al no existir ruta de escape, este

disminuye su actividad y se rinde (desesperanza). El consumo de antidepresivos aumenta el tiempo de movilidad del animal, mientras que la presencia de un daño previo genera que la inmovilidad del roedor se establezca por más tiempo. Estos valores permiten determinar el desarrollo de conductas tipo depresivas. En este caso en particular, los resultados obtenidos indican que no hay diferencias significativas entre los grupos experimentales en cuanto a los parámetros de tiempo y episodios de inmovilidad. Mientras que el grupo PGZ presenta la tendencia de disminuir su latencia al primer episodio de inmovilidad, es decir, los individuos de este grupo prefieren quedarse inmóviles. Una vez más los resultados se contradicen debido a que otros autores mencionan que la PGZ (2.5, 5 y 10 mg/Kg) sobre un modelo de estrés crónico disminuye el tiempo de inmovilidad en esta prueba (Zhao *et al.*, 2016). Asimismo, en otro modelo con 6 hidroxidopamina (6-OHDA) las ratas presentan un incremento en el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado, sin embargo, como se ha mencionado antes, nuestro modelo no conlleva daño alguno.

En esta prueba, un mayor tiempo de inmovilidad es indicativo de desesperanza, sin embargo, puede ser revertido (Porsolt *et al.*, 1977). Por el contrario, el tiempo de nado involucra el sistema serotoninérgico, en el cual tratamientos con ISRS incrementan la movilidad (Lino-de-Oliveira *et al.*, 2005). Los trabajos de Santiago *et al.* (2010) demuestran que existe una relación positiva entre los niveles de serotonina y el tiempo de nado. Sin embargo, nuestros grupos no se presentan diferencia en cuanto a la conducta de desesperanza.

10. Conclusión

En este estudio se encontró que la PGZ actúa sobre los estadios intermedios del proceso neurogénico del giro dentado del hipocampo al incrementar el número de células positivas a DCX y su maduración dendrítica en ratonas de la cepa Balb/C. Además, se encontró que la PGZ incrementa el número de espinas dendríticas en las células granulares del giro dentado del hipocampo. Lo anterior a través de un mecanismo que involucra a los PPARgamma. Sin embargo, no encontramos evidencia de los beneficios respecto a los cambios neuroplásticos modulados por la PGZ y un mejoramiento conductual. Por lo que es necesario elucidar con un modelo y paradigmas conductuales más apropiados en estudios futuros.

☪

11. Referencias

1. Ables, J., Breunig, J., Eisch, A., & Rakic, P. (2011). Not(ch) just development: Notch signalling in the adult brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(5), 269-283. doi: 10.1038/nrn3024
2. Aftab, A., Kemp, D., Ganocy, S., Schinagle, M., Conroy, C., & Brownrigg, B. et al. (2019). Double-blind, placebo-controlled trial of pioglitazone for bipolar depression. *Journal Of Affective Disorders*, 245, 957-964. doi: 10.1016/j.jad.2018.11.090
3. Aggleton, J., Albasser, M., Aggleton, D., Poirier, G., & Pearce, J. (2010). Lesions of the rat perirhinal cortex spare the acquisition of a complex configural visual discrimination yet impair object recognition. *Behavioral Neuroscience*, 124(1), 55-68. doi: 10.1037/a0018320
4. Aimone, J., & Gage, F. (2011). Modeling new neuron function: a history of using computational neuroscience to study adult neurogenesis. *European Journal Of Neuroscience*, 33(6), 1160-1169. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07615.x
5. Albright, J., Stojkowska, I., Rahman, A., Brown, C., & Morrison, B. (2016). Nestin-positive/SOX2-negative cells mediate adult neurogenesis of nigral dopaminergic neurons in mice. *Neuroscience Letters*, 615, 50-54. doi: 10.1016/j.neulet.2016.01.019
6. Altman, J. (1962). Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135, 1127-1128
7. Alvarez, P., & Squire, L. (1994). Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 91(15), 7041-7045. doi: 10.1073/pnas.91.15.7041
8. Amaral DG., Scharfman HE., y Lavenex, P. (2007) The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress in Brain Reserch* 163:3-22
9. Ambrogini, P., Lattanzi, D., Ciuffoli, S., Agostini, D., Bertini, L., & Stocchi, V. et al. (2004). Morpho-functional characterization of neuronal cells at different stages of maturation in granule cell layer of adult rat dentate gyrus. *Brain Research*, 1017(1-2), 21-31. doi: 10.1016/j.brainres.2004.05.039
10. Anisman, H., Hayley, S., Kelly, O., Borowski, T., & Merali, Z. (2001). Psychogenic, neurogenic, and systemic stressor effects on plasma corticosterone and behavior: Mouse strain-dependent outcomes. *Behavioral Neuroscience*, 115(2), 443-454. doi: 10.1037/0735-7044.115.2.443
11. Anisman, H., Lacosta, S., Kent, P., McIntyre, D., & Merali, Z. (1998). Stressor-Induced Corticotropin-Releasing Hormone, Bombesin, ACTH and Corticosterone Variations in Strains of Mice Differentially Responsive to Stressors. *Stress*, 2(3), 209-220. doi: 10.3109/10253899809167284
12. Asadabadi, M., Mohammadi, M., Ghanizadeh, A., Modabbernia, A., Ashrafi, M., & Hassanzadeh, E. et al. (2012). Celecoxib as adjunctive treatment to risperidone in children with autistic disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Psychopharmacology*, 225(1), 51-59. doi: 10.1007/s00213-012-2796-8
13. Ashton, R., Conway, A., Pangarkar, C., Bergen, J., Lim, K., & Shah, P. et al. (2012). Astrocytes regulate adult hippocampal neurogenesis through ephrin-B signaling. *Nature Neuroscience*, 15(10), 1399-1406. doi: 10.1038/nn.3212
14. Babu H, Ramirez-Rodriguez G, Fabel K, Bischofberger J, Kempermann G. Synaptic Network Activity Induces Neuronal Differentiation of Adult

- Hippocampal Precursor Cells through BDNF Signaling. *Front Neurosci.* 2009 Sep 30;3:49. doi: 10.3389/neuro.22.001.2009. PMID: 20582276; PMCID: PMC2858558.
15. Barbosa, I., Rocha, N., Miranda, A., Magalhães, P., Huguet, R., & Souza, L. et al. (2012). Increased levels of adipokines in bipolar disorder. *Journal Of Psychiatric Research*, 46(3), 389-393. doi: 10.1016/j.jpsychires.2011.11.010
 16. Bedard, A., and Parent, A. (2004). Evidence of newly generated neurons in the human olfactory bulb. *Developmental Brain Research*. 151, 159–168.
 17. Belzung, C., & Griebel, G. (2001). Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behavioural Brain Research*, 125(1-2), 141-149. doi: 10.1016/s0166-4328(01)00291-1
 18. Belzung, C., El Hage, W., Moindrot, N., & Griebel, G. (2001). Behavioral and neurochemical changes following predatory stress in mice. *Neuropharmacology*, 41(3), 400-408. doi: 10.1016/s0028-3908(01)00072-7
 19. Bergami M, Masserdotti G, Temprana SG, Motori E, Eriksson TM, Gobel J, Yang SM, Conzelmann KK, Schinder AF, Gotz M, Berninger B (2015) A critical period for experience-dependent remodeling of adult-born neuron connectivity. *Neuron* 85:710–717
 20. Berger, J., & Moller, D. (2002). The Mechanisms of Action of PPARs. *Annual Review Of Medicine*, 53(1), 409-435. doi: 10.1146/annurev.med.53.082901.104018
 21. Bernardo, A., & Minghetti, L. (2008). Regulation of Glial Cell Functions by PPAR-Natural and Synthetic Agonists. *PPAR Research*, 2008, 1-10. doi: 10.1155/2008/864140
 22. Bernardo, A., Levi, G., & Minghetti, L. (2000). Role of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) and its natural ligand 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 in the regulation of microglial functions. *European Journal Of Neuroscience*, 12(7), 2215-2223. doi: 10.1046/j.1460-9568.2000.00110.x
 23. Beyer, J., & Krishnan, K. (2002). Volumetric brain imaging findings in mood disorders. *Bipolar Disorders*, 4(2), 89-104. doi: 10.1034/j.1399-5618.2002.01157.x
 24. Boldrini, M., Fulmore, C., Tartt, A., Simeon, L., Pavlova, I., & Poposka, V. et al. (2018). Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell*, 22(4), 589-599.e5. doi: 10.1016/j.stem.2018.03.015
 25. Boldrini, M., Underwood, M. D., Hen, R., Rosoklija, G. B., Dwork, A. J., John Mann, J., and Arango, V. (2009). Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology*. 34, 2376–2389
 26. Bonaguidi, M., Song, J., Ming, G., & Song, H. (2012). A unifying hypothesis on mammalian neural stem cell properties in the adult hippocampus. *Current Opinion In Neurobiology*, 22(5), 754-761. doi: 10.1016/j.conb.2012.03.013
 27. Bonato, J. M., Bassani, T. B., Milani, H., Vital, M., & de Oliveira, R. (2018). Pioglitazone reduces mortality, prevents depressive-like behavior, and impacts hippocampal neurogenesis in the 6-OHDA model of Parkinson's disease in rats. *Experimental neurology*, 300, 188–200. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.11.009>
 28. Bond, A., Peng, C., Meyers, E., McGuire, T., Ewaleifoh, O., & Kessler, J. (2014). BMP Signaling Regulates the Tempo of Adult Hippocampal Progenitor Maturation at Multiple Stages of the Lineage. *STEM CELLS*, 32(8), 2201-2214. doi: 10.1002/stem.1688
 29. Boris, M., Kaiser, C., Goldblatt, A., Elice, M., Edelson, S., Adams, J., & Feinstein, D. (2007). *Journal Of Neuroinflammation*, 4(1), 3. doi: 10.1186/1742-2094-4-3

30. Bosco, D., Fava, A., Plastino, M., Montalcini, T., & Pujia, A. (2011). Possible implications of insulin resistance and glucose metabolism in Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal Of Cellular And Molecular Medicine*, 15(9), 1807-1821. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01318.x
31. Bourin, M., Mocaër, E., Porsolt, R. (2003). Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*. 29(2):126-33.
32. Bradford, M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. doi: 10.1006/abio.1976.999
33. Braissant, O., Foufelle, F., Scotto, C., Dauça, M., & Wahli, W. (1996). Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology*, 137(1), 354-366. doi: 10.1210/endo.137.1.8536636
34. Braissant, O., Foufelle, F., Scotto, C., Dauça, M., & Wahli, W. (1996). Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology*, 137(1), 354-366. doi: 10.1210/endo.137.1.8536636
35. Brandoli, C., Sanna, A., De Bernardi, M., Follesa, P., Brooker, G., & Mocchetti, I. (1998). Brain-Derived Neurotrophic Factor and Basic Fibroblast Growth Factor Downregulate NMDA Receptor Function in Cerebellar Granule Cells. *The Journal Of Neuroscience*, 18(19), 7953-7961. doi: 10.1523/jneurosci.18-19-07953.1998
36. Bremner, J., Randal, P., Scott, T., Bronen, R., Seibyl, J., Southwick, S. (1995). MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. *American Journal Of Psychiatry*, 152(7), 973-981. doi: 10.1176/ajp.152.7.973
37. Brodbeck, J., Balestra, M., Saunders, A., Roses, A., Mahley, R., & Huang, Y. (2008). Rosiglitazone increases dendritic spine density and rescues spine loss caused by apolipoprotein E4 in primary cortical neurons. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 105(4), 1343-1346. doi: 10.1073/pnas.0709906104
38. Brooker, S., Gobeske, K., Chen, J., Peng, C., & Kessler, J. (2016). Hippocampal bone morphogenetic protein signaling mediates behavioral effects of antidepressant treatment. *Molecular Psychiatry*, 22(6), 910-919. doi: 10.1038/mp.2016.160
39. Brown, J., Couillard-Després, S., Cooper-Kuhn, C., Winkler, J., Aigner, L., & Kuhn, H. (2003). Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *Journal Of Comparative Neurology*, 467(1), 1-10. doi: 10.1002/cne.10874
40. Bryant NA, Buchanan RW, Vadar K, Breier A, Rothman M. (1999). Gender differences in temporal lobe structures of patients with schizophrenia: a volumetric MRI study. *American Journal of Psychiatry* 156:603-9
41. Cameron HA, McKay RD (1999) Restoring production of hippocampal neurons in old age. *Nature Neuroscience* 2:894-897
42. Cameron HA, McKay RD. (2001). Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *The Journal of Comparative Neurology* 435:406-417.
43. Campbell, S., y MacQueen, G. (2004) The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*. 29(6): 417-426

44. Carta, A., Frau, L., Pisanu, A., Wardas, J., Spiga, S., & Carboni, E. (2011). Rosiglitazone decreases peroxisome proliferator receptor-gamma levels in microglia and inhibits TNF-alpha production: new evidences on neuroprotection in a progressive Parkinson's disease model. *Neuroscience*, *194*, 250-261. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.07.046
45. Choi, J., Kim, J., Kim, J., Park, J., Lee, W., & Lee, J. (2017). M2 Phenotype Microglia-derived Cytokine Stimulates Proliferation and Neuronal Differentiation of Endogenous Stem Cells in Ischemic Brain. *Experimental Neurobiology*, *26*(1), 33-41. doi: 10.5607/en.2017.26.1.33
46. Cimini, A., Benedetti, E., Cristiano, L., Sebastiani, P., D'amico, M., D'angelo, B., & Di Loreto, S. (2005). Expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and retinoic acid receptors (RXRs) in rat cortical neurons. *Neuroscience*, *130*(2), 325-337. doi: 10.1016/j.neuroscience.2004.09.043
47. Colle, R., de Larminat, D., Rotenberg, S., Hozer, F., Hardy, P., & Verstuyft, C. et al. (2016). PPAR-γ Agonists for the Treatment of Major Depression: A Review. *Pharmacopsychiatry*, *50*(02), 49-55. doi: 10.1055/s-0042-120120
48. Connor, B., Young, D., Yan, Q., Faull, R., Synek, B., & Dragunow, M. (1997). Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Molecular Brain Research*, *49*(1-2), 71-81. doi: 10.1016/s0169-328x(97)00125-3
49. Corfield, E., Martin, N., & Nyholt, D. (2016). Co-occurrence and symptomatology of fatigue and depression. *Comprehensive Psychiatry*, *71*, 1-10. doi: 10.1016/j.comppsy.2016.08.004
50. Craske, M. G., Rose, R. D., Lang, A., Welch, S. S., Campbell-Sills, L., Sullivan, G., Sherbourne, C., Bystritsky, A., Stein, M. B., and Roy-Byrne, P. P. (2009). Computer-assisted delivery of cognitive behavioral therapy for anxiety disorders in primary-care settings. *Depression & Anxiety* *26*, 235–242
51. Crawley, J., Belknap, J., Collins, A., Crabbe, J., Frankel, W., & Henderson, N. et al. (1997). Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology*, *132*(2), 107-124. doi: 10.1007/s002130050327
52. Cryan, J.F. and Leonard, B.E. (2000) 5-HT1A and beyond: the role of serotonin and its receptors in depression and the antidepressant response. *Human psychopharmacology*. *15*, 113–135.
53. Curtis, M. A., Penney, E. B., Pearson, A. G., van Roon-Mom, W. M., Butterworth, N. J., Dragunow, M., Connor, B., and Faull, R. L. (2003). Increased cell proliferation and neurogenesis in the adult human Huntington's disease brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. *100*, 9023–9027.
54. Czeh, B., Michaelis, T., Watanabe, T., Frahm, J., de Biurrun, G., & van Kampen, M. et al. (2001). Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, *98*(22), 12796-12801. doi: 10.1073/pnas.211427898
55. de Moraes Magalhães, N., Guerreiro Diniz, C., Guerreiro Diniz, D., Pereira Henrique, E., Corrêa Pereira, P., & Matos Moraes, I. et al. (2017). Hippocampal neurogenesis and volume in migrating and wintering semipalmated sandpipers (*Calidris pusilla*). *PLOS ONE*, *12*(6), e0179134. doi: 10.1371/journal.pone.0179134

56. Del Bigio, M. (1999). Proliferative status of cells in adult human dentate gyrus. *Microscopy Research And Technique*, 45(6), 353-358. doi: 10.1002/(sici)1097-0029(19990615)45:6<353::aid-jemt3>3.0.co;2-m
57. Delerive, P., Fruchart, J., & Staels, B. (2001). Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *Journal Of Endocrinology*, 169(3), 453-459. doi: 10.1677/joe.0.1690453
58. Denninger, J., Smith, B., & Kirby, E. (2018). Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. *Journal Of Visualized Experiments*, (141). doi: 10.3791/58593
59. Denninger, J., Smith, B., & Kirby, E. (2018). Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. *Journal Of Visualized Experiments*, (141). doi: 10.3791/58593
60. Desvergne B, Wahli W. (1995). PPAR: a key nuclear factor in nutrient/gene interactions? endothelial cell activation, reduce circulating platelet activity, In: Bauerle I, editor. *Inducible transcription*. Boston (MA): Birkhauser 142-76
61. Doetsch, F., & Alvarez-Buylla, A. (1996). Network of tangential pathways for neuronal migration in adult mammalian brain. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 93(25), 14895-14900. doi: 10.1073/pnas.93.25.14895
62. Drew, M. R., y Hen, R. (2007). Adult hippocampal neurogenesis as target for the treatment of depression. *CNS & Neurological Disorders- Drug Targets* 6, 205–218
63. Drew, P., Johnson, J., Douglas, J., Phelan, K., & Kane, C. (2015). Pioglitazone Blocks Ethanol Induction of Microglial Activation and Immune Responses in the Hippocampus, Cerebellum, and Cerebral Cortex in a Mouse Model of Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Alcoholism: Clinical And Experimental Research*, 39(3), 445-454. doi: 10.1111/acer.12639
64. Dulawa, S., Holick, K., Gundersen, B. et al. (2004). Effects of Chronic Fluoxetine in Animal Models of Anxiety and Depression. *Neuropsychopharmacol* 29, 1321–1330 <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300433>
65. Duman, R. S., Malberg, J., Nakagawa, S., y D'Sa, C. (2000). Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biological Psychiatry* 48, 732–739
66. Duvernoy HM. (1998). *The human hippocampus: functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI*. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag
67. Ehm, O., Goritz, C., Covic, M., Schaffner, I., Schwarz, T., & Karaca, E. et al. (2010). RBPJ -Dependent Signaling Is Essential for Long-Term Maintenance of Neural Stem Cells in the Adult Hippocampus. *Journal Of Neuroscience*, 30(41), 13794-13807. doi: 10.1523/jneurosci.1567-10.2010
68. Eissa Ahmed, A., Al-Rasheed, N., & Al-Rasheed, N. (2009). Antidepressant-like effects of rosiglitazone, a PPAR γ agonist, in the rat forced swim and mouse tail suspension tests. *Behavioural Pharmacology*, 20(7), 635-642. doi: 10.1097/fbp.0b013e328331b9bf
69. Ekladios, S., & El Sayed, N. (2019). Effect of pioglitazone and simvastatin in lipopolysaccharide-induced amyloidogenesis and cognitive impairment in mice. *Behavioural Pharmacology*, 30(1), 5-15. doi: 10.1097/fbp.0000000000000407
70. Encinas, J. M., y Enikolopov, G. (2008). Identifying and quantitating neural stem and progenitor cells in the adult brain. *Methods in Cell Biology*. 85, 243–272
71. Encinas, J., Michurina, T., Peunova, N., Park, J., Tordo, J., & Peterson, D. et al. (2011). Division-Coupled Astrocytic Differentiation and Age-Related Depletion of

- Neural Stem Cells in the Adult Hippocampus. *Cell Stem Cell*, 8(5), 566-579. doi: 10.1016/j.stem.2011.03.010
72. Eriksson, P. S., Perfilieva, E., BjorkEriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A., y Gage, F. H (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Natural medicine* 4, 1313–1317.
73. Esmaeili, M., Ghaedi, K., Shoaraye Nejati, A., Nematollahi, M., Shiralyian, H., & Nasr-Esfahani, M. (2016). Pioglitazone significantly prevented decreased rate of neural differentiation of mouse embryonic stem cells which was reduced by Pex11 β knock-down. *Neuroscience*, 312, 35-47. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.11.005
74. Esposito MS, Piatti VC, Laplagne DA, Morgenstern NA, Ferrari CC, Pitossi FJ, Schinder AF (2005) Neuronal differentiation in the adult hippocampus recapitulates embryonic development. *Journal of Neuroscience* 25: 10074–10086
75. Ezaki, H., Yoshida, Y., Saji, Y., Takemura, T., Fukushima, J., & Matsumoto, H. et al. (2009). Delayed liver regeneration after partial hepatectomy in adiponectin knockout mice. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 378(1), 68-72. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.10.176
76. Falk, S., & Götz, M. (2017). Glial control of neurogenesis. *Current Opinion In Neurobiology*, 47, 188-195. doi: 10.1016/j.conb.2017.10.025
77. Fanselow, M., & Dong, H. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures?. *Neuron*, 65(1), 7-19. doi: 10.1016/j.neuron.2009.11.031
78. Farzanehfar, P., Horne, M., & Aumann, T. (2017). Can Valproic Acid Regulate Neurogenesis from Nestin+ Cells in the Adult Midbrain?. *Neurochemical Research*, 42(8), 2127-2134. doi: 10.1007/s11064-017-2259-z
79. Feinstein, D., Spagnolo, A., Akar, C., Weinberg, G., Murphy, P., Gavriyuk, V., & Russo, C. (2005). Receptor-independent actions of PPAR thiazolidinedione agonists: Is mitochondrial function the key?. *Biochemical Pharmacology*, 70(2), 177-188. doi: 10.1016/j.bcp.2005.03.033
80. Ferrer, I., Krupinski, J., Goutan, E., Martí, E., Ambrosio, S., & Arenas, E. (2001). Brain-derived neurotrophic factor reduces cortical cell death by ischemia after middle cerebral artery occlusion in the rat. *Acta Neuropathologica*, 101(3), 229-238. doi: 10.1007/s004010000268
81. Floyd, Z., & Stephens, J. (2001). Interferon- γ -mediated Activation and Ubiquitin-Proteasome-dependent Degradation of PPAR γ in Adipocytes. *Journal Of Biological Chemistry*, 277(6), 4062-4068. doi: 10.1074/jbc.m108473200
82. Freund TF, Buzsaki G. (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6:347-470.
83. Fritschy JM, Weinmann O, Wenzel A, Benke D. (1998). Synapsespecific localization of NMDA and GABA(A) receptor subunits revealed by antigen-retrieval immunohistochemistry. *The Journal of Comparative Neurology* 390:194-210
84. Frodl, T., Schaub, A., Banac, S., Charypar, M., Jager, M., Kummler, P., Bottlender, R., Zetsche, T., Born, C., Leinsinger, G., Reiser, M., Möller, H. J., y Meisenzahl, E. M. (2006). Reduced hippocampal volume correlates with executive dysfunctioning in major depression. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*. 31, 316–323
85. Fuenzalida, K., Quintanilla, R., Ramos, P., Piderit, D., Fuentealba, R., & Martinez, G. et al. (2007). Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ Up-regulates the Bcl-2 Anti-apoptotic Protein in Neurons and Induces Mitochondrial Stabilization and

- Protection against Oxidative Stress and Apoptosis. *Journal Of Biological Chemistry*, 282(51), 37006-37015. doi: 10.1074/jbc.m700447200
86. Gage, F. (2000). Mammalian Neural Stem Cells. *Science*, 287(5457), 1433-1438. doi: 10.1126/science.287.5457.1433
 87. Gage, F., Coates, P., Palmer, T., Kuhn, H., Fisher, L., & Suhonen, J. et al. (1995). Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 92(25), 11879-11883. doi: 10.1073/pnas.92.25.11879
 88. García-Bueno, B., Pérez-Nievas, B., & Leza, J. (2010). Is there a role for the nuclear receptor PPAR γ in neuropsychiatric diseases?. *The International Journal Of Neuropsychopharmacology*, 13(10), 1411-1429. doi: 10.1017/s1461145710000970
 89. Ge S, Goh EL, Sailor KA, Kitabatake Y, Ming GL, Song H (2006) GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature* 439:589–593
 90. Ge, S., Goh, EL., Sailor, KA., Kitabatake, Y., Ming, GL., y Song, H. (2006). GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature* 439:589–593
 91. Gene Detail :: Allen Brain Atlas: Mouse Brain. (2020). Retrieved 5 October 2020, from <http://mouse.brain-map.org/gene/show/18779>
 92. Gillespie, C., Phifer, J., Bradley, B., & Ressler, K. (2009). Risk and resilience: Genetic and environmental influences on development of the stress response. *Depression And Anxiety*, 26(11), 984-992. doi: 10.1002/da.20605
 93. Gleeson, J., Allen, K., Fox, J., Lamperti, E., Berkovic, S., & Scheffer, I. et al. (1998). doublecortin, a Brain-Specific Gene Mutated in Human X-Linked Lissencephaly and Double Cortex Syndrome, Encodes a Putative Signaling Protein. *Cell*, 92(1), 63-72. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80899-5
 94. Gold, P.W. y Chrousos, G.P. (2002). Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs. low CRH/NE states. *Molecular Psychiatry* 7, 254–275
 95. Goldberg, R., Kendall, D., Deeg, M., Buse, J., Zagar, A., & Pinaire, J. et al. (2005). A Comparison of Lipid and Glycemic Effects of Pioglitazone and Rosiglitazone in Patients With Type 2 Diabetes and Dyslipidemia: Response to Bell and Brunzell. *Diabetes Care*, 28(12), 2985-2986. doi: 10.2337/diacare.28.12.2985
 96. Goldman, S. A., y Nottebohm, F. (1983). Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.80, 2390–2394
 97. Gould, E. (2007). How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nature reviews Neuroscience*. 8, 481–488.
 98. Gould, E. (2007). How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nature Reviews Neuroscience*. 8, 481–488.
 99. Gould, E., & Tanapat, P. (1999). Stress and hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry*, 46(11), 1472-1479. doi: 10.1016/s0006-3223(99)00247-4
 100. Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A., & Shors, T. (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nature Neuroscience*, 2(3), 260-265. doi: 10.1038/6365
 101. Grommes, C., Landreth, G. E., Sastre, M., Beck, M., Feinstein, D. L., Jacobs, A. H., Schlegel, U., & Heneka, M. T. (2006). Inhibition of in vivo glioma

- growth and invasion by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist treatment. *Molecular pharmacology*, 70(5), 1524–1533.
102. Grommes, C., Karlo, J., Caprariello, A., Blankenship, D., DeChant, A., & Landreth, G. (2013). The PPAR γ agonist pioglitazone crosses the blood–brain barrier and reduces tumor growth in a human xenograft model. *Cancer Chemotherapy And Pharmacology*, 71(4), 929-936. doi: 10.1007/s00280-013-2084-2
 103. Gross, C. (2002). Genealogy of the “Grandmother Cell”. *The Neuroscientist*, 8(5), 512-518. doi: 10.1177/107385802237175
 104. Gu Y, Arruda-Carvalho M, Wang J, Janoschka SR, Josselyn SA, Frankland PW, Ge S (2012) Optical controlling reveals timedependent roles for adult-born dentate granule cells. *Nature Neuroscience* 15:1700–1706
 105. Hall, P., & Woods, A. (1990). Immunohistochemical markers of cellular proliferation: achievements, problems and prospects. *Cell Proliferation*, 23(6), 505-522. doi: 10.1111/j.1365-2184.1990.tb01343.x
 106. Han, Y., Spassky, N., Romaguera-Ros, M., Garcia-Verdugo, J., Aguilar, A., Schneider-Maunoury, S., & Alvarez-Buylla, A. (2008). Hedgehog signaling and primary cilia are required for the formation of adult neural stem cells. *Nature Neuroscience*, 11(3), 277-284. doi: 10.1038/nn2059
 107. Hanyu, H., Sato, T., Sakurai, H., & Iwamoto, T. (2010). The role of tumor necrosis factor-alpha in cognitive improvement after peroxisome proliferator-activator receptor gamma agonist pioglitazone treatment in alzheimer's DISEASE. *Journal Of The American Geriatrics Society*, 58(5), 1000-1001. doi: 10.1111/j.1532-5415.2010.02841.x
 108. Hayley, S., & Litteljohn, D. (2013). Neuroplasticity and the next wave of antidepressant strategies. *Frontiers In Cellular Neuroscience*, 7. doi: 10.3389/fncel.2013.00218
 109. Heneka, M., & Landreth, G. (2007). PPARs in the brain. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular And Cell Biology Of Lipids*, 1771(8), 1031-1045. doi: 10.1016/j.bbalip.2007.04.016
 110. Hide, I., Tanaka, M., Inoue, A., Nakajima, K., Kohsaka, S., Inoue, K., & Nakata, Y. (2002). Extracellular ATP Triggers Tumor Necrosis Factor- α Release from Rat Microglia. *Journal Of Neurochemistry*, 75(3), 965-972. doi: 10.1046/j.1471-4159.2000.0750965.x
 111. Hill, A., Sahay, A., & Hen, R. (2015). Increasing Adult Hippocampal Neurogenesis is Sufficient to Reduce Anxiety and Depression-Like Behaviors. *Neuropsychopharmacology*, 40(10), 2368-2378. doi: 10.1038/npp.2015.85
 112. Hill, A., Sahay, A., & Hen, R. (2015). Increasing Adult Hippocampal Neurogenesis is Sufficient to Reduce Anxiety and Depression-Like Behaviors. *Neuropsychopharmacology*, 40(10), 2368-2378. doi: 10.1038/npp.2015.85
 113. Holsboer, F., Ising, M. (2010). Stress hormone regulation: biological role and translation into therapy. *Annual Review of Psychology* 61, 81–109, C1-11.
 114. Holtzheimer, P.E., Mayberg, H.S. (2011). Stuck in a rut: rethinking depression and its treatment. *Trends in Neurosciences* 34, 1–9

115. Hondares, E., Mora, O., Yubero, P., de la Concepción, M., Iglesias, R., Giralt, M., & Villarroya, F. (2006). Thiazolidinediones and Rexinoids Induce Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Coactivator (PGC)-1 α Gene Transcription: An Autoregulatory Loop Controls PGC-1 α Expression in Adipocytes via Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Coactivation. *Endocrinology*, *147*(6), 2829-2838. doi: 10.1210/en.2006-0070
116. Hussein, H. A., Moghimi, A., & Roohbakhsh, A. (2019). Anticonvulsant and ameliorative effects of pioglitazone on cognitive deficits, inflammation and apoptosis in the hippocampus of rat pups exposed to febrile seizure. *Iranian journal of basic medical sciences*, *22*(3), 267–276. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.35056.8339>
117. Imayoshi, I., & Kageyama, R. (2014). bHLH Factors in Self-Renewal, Multipotency, and Fate Choice of Neural Progenitor Cells. *Neuron*, *82*(1), 9-23. doi: 10.1016/j.neuron.2014.03.018
118. Inoue H., Tanabe T., y Umesono K. (2000). Feedback control of cyclooxygenase-2 expression through ppar gamma. *Journal of Biological Chemistry* *275*(36):28028-32.
119. Ito, D., Imai, Y., Ohsawa, K., Nakajima, K., Fukuuchi, Y., & Kohsaka, S. (1998). Microglia-specific localisation of a novel calcium binding protein, Iba1. *Molecular Brain Research*, *57*(1), 1-9. doi: 10.1016/s0169-328x(98)00040-0
120. Jahng, J. W., Kim, J. G., Kim, H. J., Kim, B. T., Kang, D. W., & Lee, J. H. (2007). Chronic food restriction in young rats results in depression- and anxiety-like behaviors with decreased expression of serotonin reuptake transporter. *Brain research*, *1150*, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.02.080>
121. Jankord R, Herman JP (2008) Limbic regulation of hypothalamopituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1148:64–73
122. Jawerka M, Colak D, Dimou L, Spiller C, Lagger S, Montgomery RL, Olson EN, Wurst W, Gottlicher M, Gotz M (2010) The specific role of histone deacetylase 2 in adult neurogenesis. *Neuron Glia Biology* 6: 93–107
123. Jaworski, J. (2005). Control of Dendritic Arborization by the Phosphoinositide-3'-Kinase-Akt-Mammalian Target of Rapamycin Pathway. *Journal Of Neuroscience*, *25*(49), 11300-11312. doi: 10.1523/jneurosci.2270-05.2005
124. Jahng JW, Kim JG, Kim HJ, Kim BT, Kang DW, Lee JH. Chronic food restriction in young rats results in depression- and anxiety-like behaviors with decreased expression of serotonin reuptake transporter. *Brain Res*. 2007 May 30;1150:100-7. doi: 10.1016/j.brainres.2007.02.080. Epub 2007 Mar 6. PMID: 17383614.
125. Ji, H., Wang, H., Zhang, F., Li, X., Xiang, L., & Aiguo, S. (2010). PPAR γ agonist pioglitazone inhibits microglia inflammation by blocking p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Inflammation Research*, *59*(11), 921-929. doi: 10.1007/s00011-010-0203-7
126. Ji, H., Wang, H., Zhang, F., Li, X., Xiang, L., & Aiguo, S. (2010). PPAR γ agonist pioglitazone inhibits microglia inflammation by blocking p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Inflammation Research*, *59*(11), 921-929. doi: 10.1007/s00011-010-0203-7

127. Ji, S., Kronenberg, G., Balkaya, M., Färber, K., Gertz, K., Kettenmann, H., & Endres, M. (2009). Acute neuroprotection by pioglitazone after mild brain ischemia without effect on long-term outcome. *Experimental Neurology*, 216(2), 321-328. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.12.007
128. Jiang, C., Ting, A., & Seed, B. (1998). PPAR- γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*, 391(6662), 82-86. doi: 10.1038/34184
129. Jope, R. (2011). Glycogen Synthase Kinase-3 in the Etiology and Treatment of Mood Disorders. *Frontiers In Molecular Neuroscience*, 4. doi: 10.3389/fnmol.2011.00016
130. Kaiser, C., Shukla, D., Stebbins, G., Skias, D., Jeffery, D., & Stefoski, D. et al. (2009). A pilot test of pioglitazone as an add-on in patients with relapsing remitting multiple sclerosis. *Journal Of Neuroimmunology*, 211(1-2), 124-130. doi: 10.1016/j.jneuroim.2009.04.011
131. Kalonia, H., Kumar, P., & Kumar, A. (2010). Pioglitazone ameliorates behavioral, biochemical and cellular alterations in quinolinic acid induced neurotoxicity: Possible role of peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR γ) in Huntington's disease. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 96(2), 115-124. doi: 10.1016/j.pbb.2010.04.018
132. Kaplan, M. S., & Hinds, J. W. (1977). Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* 197, 1092–1094.
133. Karalay, O., Doberauer, K., Vadodaria, K., Knobloch, M., Berti, L., & Miquelajauregui, A. et al. (2011). Prospero-related homeobox 1 gene (Prox1) is regulated by canonical Wnt signaling and has a stage-specific role in adult hippocampal neurogenesis. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 108(14), 5807-5812. doi: 10.1073/pnas.1013456108
134. Karege, F., Perroud, N., Burkhardt, S., Fernandez, R., Ballmann, E., La Harpe, R., & Malafosse, A. (2012). Protein levels of β -catenin and activation state of glycogen synthase kinase-3 β in major depression. A study with postmortem prefrontal cortex. *Journal Of Affective Disorders*, 136(1-2), 185-188. doi: 10.1016/j.jad.2011.09.024
135. Karege, F., Vaudan, G., Schwald, M., Perroud, N., La Harpe, R., 2005. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Molecular Brain Research*, 136, 29–37
136. Karpowicz, P., Morshead, C., Kam, A., Jervis, E., Ramunas, J., Cheng, V., & van der Kooy, D. (2005). Support for the immortal strand hypothesis: neural stem cells partition DNA asymmetrically in vitro. *Journal of Cell Biology*. 170, 721–732
137. Kasai, H., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Yasumatsu, N., & Nakahara, H. (2003). Structure–stability–function relationships of dendritic spines. *Trends In Neurosciences*, 26(7), 360-368. doi: 10.1016/s0166-2236(03)00162-0
138. Kashani, L., Omidvar, T., Farazmand, B., Modabbernia, A., Ramzanzadeh, F., & Tehraninejad, E. et al. (2013). Does pioglitazone improve depression through insulin-sensitization? Results of a randomized double-blind metformin-controlled trial in patients with polycystic ovarian syndrome and comorbid depression. *Psychoneuroendocrinology*, 38(6), 767-776. doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.08.010
139. KEMP, D., ISMAIL-BEIGI, F., & CALABRESE, J. (2009). Antidepressant Response Associated With Pioglitazone: Support for an Overlapping

- Pathophysiology Between Major Depression and Metabolic Syndrome. *American Journal Of Psychiatry*, 166(5), 619-619. doi: 10.1176/appi.ajp.2008.08081195
140. Kemp, D., Ismail-Beigi, F., Ganocy, S., Conroy, C., Gao, K., & Obral, S. et al. (2012). Use of insulin sensitizers for the treatment of major depressive disorder: A pilot study of pioglitazone for major depression accompanied by abdominal obesity. *Journal Of Affective Disorders*, 136(3), 1164-1173. doi: 10.1016/j.jad.2011.06.033
 141. Kemp, D., Schinagle, M., Gao, K., Conroy, C., Ganocy, S., Ismail-Beigi, F., & Calabrese, J. (2014). PPAR- γ Agonism as a Modulator of Mood: Proof-of-Concept for Pioglitazone in Bipolar Depression. *CNS Drugs*, 28(6), 571-581. doi: 10.1007/s40263-014-0158-2
 142. Kemperman, G. (2015). Adult Neurogenesis: An Evolutionary Perspective. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 18; 8(2):a018986
 143. Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. (1997). More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386: 493–495
 144. Kempermann, G. (2003). Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development*, 130(2), 391-399. doi: 10.1242/dev.00203
 145. Kempermann, G. (2008) The neurogenic reserve hypothesis: what is adult hippocampal neurogenesis good for? *Trends in Neuroscience* 31, 163–169.
 146. Kempermann, G., Jessberger, S., Steiner, B., y Kronenberg, G. (2004). Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends in Neurosciences*. 27, 447–452.
 147. Kerr, D., Campbell, L., Applegate, M., Brodish, A., & Landfield, P. (1991). Chronic stress-induced acceleration of electrophysiologic and morphometric biomarkers of hippocampal aging. *The Journal Of Neuroscience*, 11(5), 1316-1324. doi: 10.1523/jneurosci.11-05-01316.1991
 148. Kheirbek, M., Drew, L., Burghardt, N., Costantini, D., Tannenholz, L., & Ahmari, S. et al. (2013). Differential Control of Learning and Anxiety along the Dorsoventral Axis of the Dentate Gyrus. *Neuron*, 77(5), 955-968. doi: 10.1016/j.neuron.2012.12.038
 149. Kin, K., Yasuhara, T., Kameda, M., Agari, T., Sasaki, T., & Morimoto, J. et al. (2017). Hippocampal neurogenesis of Wistar Kyoto rats is congenitally impaired and correlated with stress resistance. *Behavioural Brain Research*, 329, 148-156. doi: 10.1016/j.bbr.2017.04.046
 150. Kleemann, R., van Erk, M., Verschuren, L., van den Hoek, A., Koek, M., & Wielinga, P. et al. (2010). Time-Resolved and Tissue-Specific Systems Analysis of the Pathogenesis of Insulin Resistance. *Plos ONE*, 5(1), e8817. doi: 10.1371/journal.pone.0008817
 151. Knoth, R., Singec, I., Ditter, M., Pantazis, G., Capetian, P., & Meyer, R. et al. (2010). Murine Features of Neurogenesis in the Human Hippocampus across the Lifespan from 0 to 100 Years. *Plos ONE*, 5(1), e8809. doi: 10.1371/journal.pone.0008809
 152. Koo, J., & Duman, R. (2008). IL-1 is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 105(2), 751-756. doi: 10.1073/pnas.0708092105
 153. Krugers, H.J., Douma, B.R.K., Andringa, G., Bohus, B., Korf, J. and Luiten, P.G.M. (1997) Exposure to chronic psychosocial stress and corticosterone in the rat:

- effects on spatial discrimination learning and hippocampal protein kinase C α immunoreactivity. *Hippocampus* 7, 427–436.
154. Kuwabara, T., Hsieh, J., Muotri, A., Yeo, G., Warashina, M., & Lie, D. et al. (2009). Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis. *Nature Neuroscience*, 12(9), 1097-1105. doi: 10.1038/nn.2360
 155. Lee, C., Choi, J., Yoo, K., Park, O., Moon, J., & Sohn, Y. et al. (2010). Rosiglitazone, an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor γ , decreases immunoreactivity of markers for cell proliferation and neuronal differentiation in the mouse hippocampus. *Brain Research*, 1329, 30-35. doi: 10.1016/j.brainres.2010.03.027
 156. Lee, C., Choi, J., Yoo, K., Park, O., Moon, J., & Sohn, Y. et al. (2010). Rosiglitazone, an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor γ , decreases immunoreactivity of markers for cell proliferation and neuronal differentiation in the mouse hippocampus. *Brain Research*, 1329, 30-35. doi: 10.1016/j.brainres.2010.03.027
 157. Lehmann ML, Brachman RA, Martinowich K, Schloesser RJ, Herkenham M (2013) Glucocorticoids orchestrate divergent effects on mood through adult neurogenesis. *Journal of Neuroscience* 33:2961–2972
 158. Lehmann, M., Brachman, R., Martinowich, K., Schloesser, R., & Herkenham, M. (2013). Glucocorticoids Orchestrate Divergent Effects on Mood through Adult Neurogenesis. *Journal Of Neuroscience*, 33(7), 2961-2972. doi: 10.1523/jneurosci.3878-12.2013
 159. Lehnardt, S., Lachance, C., Patrizi, S., Lefebvre, S., Follett, P., & Jensen, F. et al. (2002). The Toll-Like Receptor TLR4 Is Necessary for Lipopolysaccharide-Induced Oligodendrocyte Injury in the CNS. *The Journal Of Neuroscience*, 22(7), 2478-2486. doi: 10.1523/jneurosci.22-07-02478.2002
 160. Leranth, C., & Hajszan, T. (2007). Extrinsic afferent systems to the dentate gyrus. *The Dentate Gyrus: A Comprehensive Guide To Structure, Function, And Clinical Implications*, 63-799. doi: 10.1016/s0079-6123(07)63004-0
 161. Li H, Zhong X, Chau KF, Santistevan NJ, Guo W, Kong G, Li X, Kadakia M, Masliah J, Chi J, Jin P, Zhang J, Zhao X, Chang Q (2014) Cell cycle-linked MeCP2 phosphorylation modulates adult neurogenesis involving the notch signalling pathway. *Nature communications* 5:5601
 162. Li, G., Fang, L., Fernández, G., & Pleasure, S. (2013). The Ventral Hippocampus Is the Embryonic Origin for Adult Neural Stem Cells in the Dentate Gyrus. *Neuron*, 78(4), 658-672. doi: 10.1016/j.neuron.2013.03.019
 163. Li, L., & Xie, T. (2005). STEM CELL NICHE: Structure and Function. *Annual Review Of Cell And Developmental Biology*, 21(1), 605-631. doi: 10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131525
 164. Li, Z., Okamoto, K., Hayashi, Y., & Sheng, M. (2004). The Importance of Dendritic Mitochondria in the Morphogenesis and Plasticity of Spines and Synapses. *Cell*, 119(6), 873-887. doi: 10.1016/j.cell.2004.11.003
 165. Lincoff, A., Wolski, K., Nicholls, S., & Nissen, S. (2007). Pioglitazone and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *JAMA*, 298(10), 1180. doi: 10.1001/jama.298.10.1180
 166. Lindqvist, A., Mohapel, P., Bouter, B., Frielingsdorf, H., Pizzo, D., Brundin, P., & Erlanson-Albertsson, C. (2006). High-fat diet impairs hippocampal

neurogenesis in male rats. *European Journal Of Neurology*, 13(12), 1385-1388. doi: 10.1111/j.1468-1331.2006.01500.x

167. LINODEOLIVEIRA, C., LIMA, T., & CAROBREZ, A. (2005). Structure of the rat behaviour in the forced swimming test. *Behavioural Brain Research*, 158(2), 243-250. doi: 10.1016/j.bbr.2004.09.004
168. Liu, J., Guo, M., Zhang, D., Cheng, S., Liu, M., & Ding, J. et al. (2012). Adiponectin is critical in determining susceptibility to depressive behaviors and has antidepressant-like activity. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 109(30), 12248-12253. doi: 10.1073/pnas.1202835109
169. Liu, Y. W., Curtis, M. A., Gibbons, H. M., Mee, E. W., Bergin, P. S., Teoh, H. H., Connor, B., Dragunow, M., and Faull, R. L. (2008). Doublecortin expression in the normal and epileptic adult human brain. *European Journal of Neuroscience*. 28, 2254–2265
170. Lois, C., y Alvarez-Buylla, A. (1993). Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90, 2074–2077
171. Low, Y. L., Jin, L., Morris, E. R., Pan, Y., & Nicolazzo, J. A. (2020). Pioglitazone Increases Blood-Brain Barrier Expression of Fatty Acid-Binding Protein 5 and Docosahexaenoic Acid Trafficking into the Brain. *Molecular pharmaceutics*, 17(3), 873–884. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01131>
172. Lucassen, P. J., Muller, M. B., Holsboer, F., Bauer, J., Holtrop, A., Wouda, J., Hoogendijk, W. J., De Kloet, E. R., y Swaab, D. F. (2001). Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *American Journal of Pathology*. 158, 453–468.
173. Lugert, S., Basak, O., Knuckles, P., Haussler, U., Fabel, K., & Götz, M. et al. (2010). Quiescent and Active Hippocampal Neural Stem Cells with Distinct Morphologies Respond Selectively to Physiological and Pathological Stimuli and Aging. *Cell Stem Cell*, 6(5), 445-456. doi: 10.1016/j.stem.2010.03.017
174. Lutz, T., & Le Foll, C. (2019). Endogenous amylin contributes to the birth of microglial cells in the arcuate nucleus of the hypothalamus and the area postrema during fetal development. *American Journal Of Physiology-Regulatory, Integrative And Comparative Physiology*. doi: 10.1152/ajpregu.00004.2019
175. Lyst MJ, Ekiert R, Ebert DH, Merusi C, Nowak J, Selfridge J, Guy J, Kastan NR, Robinson ND, de Lima AF, Rappsilber J, Greenberg ME, Bird A (2013) Rett syndrome mutations abolish the interaction of MeCP2 with the NCoR/SMRT co-repressor. *Nature Neuroscience* 16: 898–902
176. Ma DK, Jang MH, Guo JU, Kitabatake Y, Chang ML, Pow-Anpongkul N, Flavell RA, Lu B, Ming GL, Song H (2009b) Neuronal activity-induced Gadd45b promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis. *Science* 323:1074–1077
177. Ma, D. K., Kim, W. R., Ming, G. L., y Song, H. (2009). Activity-dependent extrinsic regulation of adult olfactory bulb and hippocampal neurogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1170, 664–673
178. Magariños, A., McEwen, B., Flügge, G., & Fuchs, E. (1996). Chronic Psychosocial Stress Causes Apical Dendritic Atrophy of Hippocampal CA3 Pyramidal Neurons in Subordinate Tree Shrews. *The Journal Of Neuroscience*, 16(10), 3534-3540. doi: 10.1523/jneurosci.16-10-03534.1996

179. Maher, J., Leon, P., & Ryan, J. (2008). Beyond insulin resistance: Innate immunity in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, *48*(2), 670-678. doi: 10.1002/hep.22399
180. Malberg, J., Eisch, A., Nestler, E., & Duman, R. (2000). Chronic Antidepressant Treatment Increases Neurogenesis in Adult Rat Hippocampus. *The Journal Of Neuroscience*, *20*(24), 9104-9110. doi: 10.1523/jneurosci.20-24-09104.2000
181. Marti-Fabregas, J., Romaguera-Ros, M., Gomez-Pinedo, U., Martinez-Ramirez, S., Jimenez-Xarrie, E., Marin, R., Marti-Vilalta, J. L., and Garcia-Verdugo, J. M. (2010). Proliferation in the human ipsilateral subventricular zone after ischemic stroke. *Neurology*, *74*, 357–365.
182. Mattiesen, W. R., Tauber, S. C., Gerber, J., Bunkowski, S., Bruck, W., and Nau, R. (2009). Increased neurogenesis after hypoxic-ischemic encephalopathy in humans is age related. *Acta Neuropathologica*. *117*, 525–534
183. Maurya, S., & Mishra, R. (2017). Co-Localization and Interaction of Pax5 with Iba1 in Brain of Mice. *Cellular And Molecular Neurobiology*, *38*(4), 919-927. doi: 10.1007/s10571-017-0566-1
184. McAvoy KM, Scobie KN, Berger S, Russo C, Guo N, Decharatanachart P, Vega-Ramirez H, Miake-Lye S, Whalen M, Nelson M, Bergami M, Bartsch D, Hen R, Berninger B, Sahay A (2016) Modulating neuronal competition dynamics in the dentate Gyrus to rejuvenate aging memory circuits. *Neuron* *91*:1356–1373
185. McEwen, B. (1999). STRESS AND HIPPOCAMPAL PLASTICITY. *Annual Review Of Neuroscience*, *22*(1), 105-122. doi: 10.1146/annurev.neuro.22.1.105
186. McEwen, B., & Magarinos, A. (1997). Stress Effects on Morphology and Function of the Hippocampus. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, *821*(1 Psychobiology), 271-284. doi: 10.1111/j.1749-6632.1997.tb48286.x
187. McKittrick, C., Magariños, A., Blanchard, D., Blanchard, R., McEwen, B., & Sakai, R. (2000). Chronic social stress reduces dendritic arbors in CA3 of hippocampus and decreases binding to serotonin transporter sites. *Synapse*, *36*(2), 85. doi: 10.1002/(sici)1098-2396(200005)36:2<85::aid-syn1>3.3.co;2-p
188. McNaughton, B.L. & Morris, R.G.M. (1987) Hippocampal synaptic enhancement and information storage within a distributed memory system. *Trends in Neuroscience.*, *10*, 408–415.
189. Miglio, G., Rosa, A., Rattazzi, L., Collino, M., Lombardi, G., & Fantozzi, R. (2009). PPAR γ stimulation promotes mitochondrial biogenesis and prevents glucose deprivation-induced neuronal cell loss. *Neurochemistry International*, *55*(7), 496-504. doi: 10.1016/j.neuint.2009.05.001
190. Miller, B., Willett, K., & Desilets, A. (2011). Rosiglitazone and Pioglitazone for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Annals Of Pharmacotherapy*, *45*(11), 1416-1424. doi: 10.1345/aph.1q238
191. Miller, MW., y Nowakowski, RS. (1988). Use of bromodeoxyuridine immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Research*. *457*, 44–52.
192. Ming, G., & Song, H. (2011). Adult Neurogenesis in the Mammalian Brain: Significant Answers and Significant Questions. *Neuron*, *70*(4), 687-702. doi: 10.1016/j.neuron.2011.05.001

193. Mira, H., Andreu, Z., Suh, H., Lie, D., Jessberger, S., & Consiglio, A. et al. (2010). Signaling through BMPR-IA Regulates Quiescence and Long-Term Activity of Neural Stem Cells in the Adult Hippocampus. *Cell Stem Cell*, 7(1), 78-89. doi: 10.1016/j.stem.2010.04.01
194. Mirescu, C., Peters, J., & Gould, E. (2004). Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nature Neuroscience*, 7(8), 841-846. doi: 10.1038/nn1290
195. Mirescu, C., y Gould, E. (2006). Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus* 16, 233–238.
196. Miyata KS, McCaw SE, Marcus SL, et al. (1994). The peroxisome proliferator-activated patients without diabetes mellitus. These additional effects appear receptor interacts with the retinoid X receptor *in vivo*. *Gene* 148: 327-30
197. Mohammed, A. (2019). Quantitative assessment of Ki67 expression in correlation with various breast cancer characteristics and survival rate; cross sectional study. *Annals Of Medicine And Surgery*, 48, 129-134. doi: 10.1016/j.amsu.2019.11.005
198. Mongiat LA, Esposito MS, Lombardi G., y Schinder AF. (2009). Reliable activation of immature neurons in the adult hippocampus. *PLoS ONE* 4:e5320
199. Monzo, H., Coppieters, N., Park, T., Dieriks, B., Faull, R., Dragunow, M., & Curtis, M. (2017). Insulin promotes cell migration by regulating PSA-NCAM. *Experimental Cell Research*, 355(1), 26-39. doi: 10.1016/j.yexcr.2017.03.029
200. Moraes, L., Piqueras, L., & Bishop-Bailey, D. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation. *Pharmacology & Therapeutics*, 110(3), 371-385. doi: 10.1016/j.pharmthera.2005.08.007
201. Morales-Garcia, J., Luna-Medina, R., Alfaro-Cervello, C., Cortes-Canteli, M., Santos, A., Garcia-Verdugo, J., & Perez-Castillo, A. (2010). Peroxisome proliferator-activated receptor γ ligands regulate neural stem cell proliferation and differentiation in vitro and in vivo. *Glia*, 59(2), 293-307. doi: 10.1002/glia.21101
202. Moreno, S., Farioli-Vecchioli, S., & Cerù, M. (2004). Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid x receptors in the adult rat CNS. *Neuroscience*, 123(1), 131-145. doi: 10.1016/j.neuroscience.2003.08.064
203. Moreno-Jiménez, E., Flor-García, M., Terreros-Roncal, J., Rábano, A., Cafini, F., & Pallas-Bazarra, N. et al. (2019). Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 25(4), 554-560. doi: 10.1038/s41591-019-0375-9
204. Mukherjee, R., Jow, L., Croston, G., & Paterniti, J. (1997). Identification, Characterization, and Tissue Distribution of Human Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) Isoforms PPAR γ 2 versus PPAR γ 1 and Activation with Retinoid X Receptor Agonists and Antagonists. *Journal Of Biological Chemistry*, 272(12), 8071-8076. doi: 10.1074/jbc.272.12.8071
205. Murray, H., Low, V., Swanson, M., Dieriks, B., Turner, C., Faull, R., & Curtis, M. (2016). Distribution of PSA-NCAM in normal, Alzheimer's and Parkinson's disease human brain. *Neuroscience*, 330, 359-375. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.06.003
206. Muschamp, J., Van't Veer, A., & Carlezon, W. (2011). Tracking Down the Molecular Substrates of Stress: New Roles for p38 α MAPK and Kappa-Opioid Receptors. *Neuron*, 71(3), 383-385. doi: 10.1016/j.neuron.2011.07.018

207. Nagy L, Tontonoz P, Alvarez JG, et al. (1998). Oxidized LDL regulates macrophage gene 159-63 expression through ligand activation of PPARgamma. *Cell* 93: 229-40
208. Namura, S., Takada, M., Kikuchi, H., & Mizuno, N. (1994). Topographical organization of subicular neurons projecting to subcortical regions. *Brain Research Bulletin*, 35(3), 221-231. doi: 10.1016/0361-9230(94)90126-0
209. Ninkovic, J., & Götz, M. (2013). Fate specification in the adult brain - lessons for eliciting neurogenesis from glial cells. *Bioessays*, 35(3), 242-252. doi: 10.1002/bies.201200108
210. Okuyama T, Kitamura T, Roy DS, Itohara S, Tonegawa S (2016) Ventral CA1 neurons store social memory. *Science* 353:1536–1541
211. Olivares-Hernandez, J., Juárez-Aguilar, E., García-García, F. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*. 20-28
212. Ondrey, F. (2009). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Pathway Targeting in Carcinogenesis: Implications for Chemoprevention. *Clinical Cancer Research*, 15(1), 2-8. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-08-0326
213. Ortiz-López L, Vega-Rivera NM, Babu H, Ramírez-Rodríguez GB. Brain-Derived Neurotrophic Factor Induces Cell Survival and the Migration of Murine Adult Hippocampal Precursor Cells During Differentiation In Vitro. *Neurotox Res*. 2017 Jan;31(1):122-135. doi: 10.1007/s12640-016-9673-x. Epub 2016 Sep 24. PMID: 27663583.
214. Owen, E., Christensen, S., Paylor, R., & Wehner, J. (1997). Identification of quantitative trait loci involved in contextual and auditory-cued fear conditioning in BXD recombinant inbred strains. *Behavioral Neuroscience*, 111(2), 292-300. doi: 10.1037/0735-7044.111.2.292
215. Owen, E., Logue, S., Rasmussen, D., & J. M. Wehner. (1997). Assessment of learning by the Morris water task and fear conditioning in inbred mouse strains and F1 hybrids: implications of genetic background for single gene mutations and quantitative trait loci analyses. *Neuroscience*, 80(4), 1087-1099. doi: 10.1016/s0306-4522(97)00165-6
216. Paredes, M., James, D., Gil-Perotin, S., Kim, H., Cotter, J., & Ng, C. et al. (2016). Extensive migration of young neurons into the infant human frontal lobe. *Science*, 354(6308), aaf7073-aaf7073. doi: 10.1126/science.aaf7073
217. Park, S., Yi, J., Miranpuri, G., Satriotomo, I., Bowen, K., Resnick, D., & Vemuganti, R. (2006). Thiazolidinedione Class of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Agonists Prevents Neuronal Damage, Motor Dysfunction, Myelin Loss, Neuropathic Pain, and Inflammation after Spinal Cord Injury in Adult Rats. *Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, 320(3), 1002-1012. doi: 10.1124/jpet.106.113472
218. Patzke, N., Spocter, M., Karlsson, K., Bertelsen, M., Haagensen, M., & Chawana, R. et al. (2013). In contrast to many other mammals, cetaceans have relatively small hippocampi that appear to lack adult neurogenesis. *Brain Structure And Function*, 220(1), 361-383. doi: 10.1007/s00429-013-0660-1
219. Pedersen, W., McMillan, P., Kulstad, J., Leverenz, J., Craft, S., & Haynatzki, G. (2006). Rosiglitazone attenuates learning and memory deficits in Tg2576 Alzheimer mice. *Experimental Neurology*, 199(2), 265-273. doi: 10.1016/j.expneurol.2006.01.018

220. Pinto, M., Nissanka, N., Peralta, S., Brambilla, R., Diaz, F., & Moraes, C. (2016). Pioglitazone ameliorates the phenotype of a novel Parkinson's disease mouse model by reducing neuroinflammation. *Molecular Neurodegeneration*, 11(1). doi: 10.1186/s13024-016-0090-7
221. Plümpe, T., Ehninger, D., Steiner, B., Klempin, F., Jessberger, S., & Brandt, M. et al. (2006). *BMC Neuroscience*, 7(1), 77. doi: 10.1186/1471-2202-7-77
222. Ponce-Lopez, T., Liy-Salmeron, G., Hong, E., & Meneses, A. (2011). Lithium, phenserine, memantine and pioglitazone reverse memory deficit and restore phospho-GSK3 β decreased in hippocampus in intracerebroventricular streptozotocin induced memory deficit model. *Brain Research*, 1426, 73-85. doi: 10.1016/j.brainres.2011.09.056
223. PORSOLT, R., LE PICHON, M., & JALFRE, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732. doi: 10.1038/266730a0
224. Prakash, A., & Kumar, A. (2013). Role of Nuclear Receptor on Regulation of BDNF and Neuroinflammation in Hippocampus of β -Amyloid Animal Model of Alzheimer's Disease. *Neurotoxicity Research*, 25(4), 335-347. doi: 10.1007/s12640-013-9437-9
225. Pryce, C. R., y Seifritz, E. (2011). A translational research framework for enhanced validity of mouse models of psychopathological states in depression. *Psychoneuroendocrinology* 36, 308–329
226. Qin, Y., Karst, H. and Joëls, M. (2004) Chronic unpredictable stress alters gene expression in rat single dentate granule cells. *Journal of Neurochemistry* 89, 364–374
227. Qin, Y., Karst, H. and Joëls, M. (2004). Chronic unpredictable stress alters gene expression in rat single dentate granule cells, *Journal of Neurochemistry*. 89, 364–374
228. Quintanilla, R., Utreras, E., & Cabezas-Opazo, F. (2014). Role of PPAR γ in the Differentiation and Function of Neurons. *PPAR Research*, 2014, 1-9. doi: 10.1155/2014/768594
229. Rahigude, A., Bhutada, P., Kaulaskar, S., Aswar, M., & Otari, K. (2012). Participation of antioxidant and cholinergic system in protective effect of naringenin against type-2 diabetes-induced memory dysfunction in rats. *Neuroscience*, 226, 62-72. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.09.026
230. Raison, C., Dantzer, R., Kelley, K., Lawson, M., Woolwine, B., & Vogt, G. et al. (2009). CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN- α : relationship to CNS immune responses and depression. *Molecular Psychiatry*, 15(4), 393-403. doi: 10.1038/mp.2009.116
231. Raison, C.L., Capuron, L., Miller, H. (2006). Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends in Immunology*, 27, 24–31
232. Rajkowska, G. (2000). Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. *Biological Psychiatry*, 48(8), 766-777. doi: 10.1016/s0006-3223(00)00950-1
233. Ramirez S, Liu X, MacDonald CJ, Moffa A, Zhou J, Redondo RL, Tonegawa S (2015) Activating positive memory engrams suppresses depression-like behaviour. *Nature* 522:335–339
234. Ramírez, E., Mendieta, L., Flores, G., & Limón, I. (2018). Neurogenesis and morphological-neural alterations closely related to amyloid β -peptide (25–35)-

- induced memory impairment in male rats. *Neuropeptides*, 67, 9-19. doi: 10.1016/j.npep.2017.11.001
235. Ramírez-Rodríguez, G., Ocaña-Fernández, MDA. y Ortíz-Lóperz, L. (2018). Newly generated cells in the dentate gyrus differentially respond to brief spatial exploration and forced swim in adult female Balb/C mice. *Neural plasticity*. 2018:4960869
236. Rasmusson, A. (2002). Downregulation of BDNF mRNA in the Hippocampal Dentate Gyrus after Re-exposure to Cues Previously Associated with Footshock. *Neuropsychopharmacology*, 27(2), 133-142. doi: 10.1016/s0893-133x(02)00286-5
237. Razzoli, M., Carboni, L., Andreoli, M., Ballottari, A., & Arban, R. (2011). Different susceptibility to social defeat stress of BalbC and C57BL6/J mice. *Behavioural Brain Research*, 216(1), 100-108. doi: 10.1016/j.bbr.2010.07.014
238. Rempel-Clower, N., Zola, S., Squire, L., & Amaral, D. (1996). Three Cases of Enduring Memory Impairment after Bilateral Damage Limited to the Hippocampal Formation. *The Journal Of Neuroscience*, 16(16), 5233-5255. doi: 10.1523/jneurosci.16-16-05233.1996
239. Reynolds, B. A., y Weiss, S. (1992). Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 255, 1707–1710
240. Reynolds, B., & Weiss, S. (1996). Clonal and Population Analyses Demonstrate That an EGF-Responsive Mammalian Embryonic CNS Precursor Is a Stem Cell. *Developmental Biology*, 175(1), 1-13. doi: 10.1006/dbio.1996.0090
241. Ricote, M., Li, A., Willson, T., Kelly, C., & Glass, C. (1998). The peroxisome proliferator-activated receptor- γ is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, 391(6662), 79-82. doi: 10.1038/34178
242. Roberts, T., Tschida, K., Klein, M., & Mooney, R. (2010). Rapid spine stabilization and synaptic enhancement at the onset of behavioural learning. *Nature*, 463(7283), 948-952. doi: 10.1038/nature08759
243. Rogatsky, I., Trowbridge, J., & Garabedian, M. (1997). Glucocorticoid receptor-mediated cell cycle arrest is achieved through distinct cell-specific transcriptional regulatory mechanisms. *Molecular And Cellular Biology*, 17(6), 3181-3193. doi: 10.1128/mcb.17.6.3181
244. Ryan, K., Li, B., Grayson, B., Matter, E., Woods, S., & Seeley, R. (2011). A role for central nervous system PPAR- γ in the regulation of energy balance. *Nature Medicine*, 17(5), 623-626. doi: 10.1038/nm.2349
245. Saeidienik, F., Shahraki, M., Fanaei, H., & Badini, F. (2018). The Effects of Iron Oxide Nanoparticles Administration on Depression Symptoms Induced by LPS in Male Wistar Rats. *Basic And Clinical Neuroscience Journal*, 9(3), 209-216. doi: 10.29252/nirp.bcn.9.3.209
246. Salehi-Sadaghiani, M., Javadi-Paydar, M., Gharedaghi, M., Zandieh, A., Heydarpour, P., Yousefzadeh-fard, Y., & Dehpour, A. (2012). NMDA receptor involvement in antidepressant-like effect of pioglitazone in the forced swimming test in mice. *Psychopharmacology*, 223(3), 345-355. doi: 10.1007/s00213-012-2722-0
247. Saltiel, A., & Olefsky, J. (1996). Thiazolidinediones in the Treatment of Insulin Resistance and Type II Diabetes. *Diabetes*, 45(12), 1661-1669. doi: 10.2337/diab.45.12.1661

248. Saltiel, AR, Olefsky, JM. (1996). Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance needed to elucidate the true potential preventive role of PPAR- γ and type II diabetes. *Diabetes* 45: 1661-9
249. Sanai, N., Tramontin, AD., Quinones Hinojosa, A., Barbaro, NM., Gupta, N., Kunwar, S., Lawton, MT., McDermott, MW., Parsa, A. T., Manuel-Garcia Verdugo, J., Berger, M. S., and Alvarez-Buylla, A. (2004). Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature* 427, 740–744
250. Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., Weisstaub, N., Lee, J., Duman, R., Arancio, O., Belzung, C. and Hen, R. (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants, *Science* 301, 805–809
251. Santiago, R., Barbiero, J., Lima, M., Dombrowski, P., Andreatini, R., & Vital, M. (2010). Depressive-like behaviors alterations induced by intranigral MPTP, 6-OHDA, LPS and rotenone models of Parkinson's disease are predominantly associated with serotonin and dopamine. *Progress In Neuro-Psychopharmacology And Biological Psychiatry*, 34(6), 1104-1114. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.06.004
252. Sarruf, D., Yu, F., Nguyen, H., Williams, D., Printz, R., Niswender, K., & Schwartz, M. (2009). Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ in Key Neuronal Subsets Regulating Glucose Metabolism and Energy Homeostasis. *Endocrinology*, 150(2), 707-712. doi: 10.1210/en.2008-0899
253. Schloesser, R., Manji, H., & Martinowich, K. (2009). Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport*, 20(6), 553-557. doi: 10.1097/wnr.0b013e3283293e59
254. Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. (2004). Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 429:184–187.
255. Schoonjans, K., & Auwerx, J. (2000). Thiazolidinediones: an update. *The Lancet*, 355(9208), 1008-1010. doi: 10.1016/s0140-6736(00)90002-3
256. Schuitemaker, A., van der Doef, T., Boellaard, R., van der Flier, W., Yaqub, M., & Windhorst, A. et al. (2012). Microglial activation in healthy aging. *Neurobiology Of Aging*, 33(6), 1067-1072. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.016
257. Sepanjnia, K., Modabbernia, A., Ashrafi, M., Modabbernia, M., & Akhondzadeh, S. (2012). Pioglitazone Adjunctive Therapy for Moderate-to-Severe Major Depressive Disorder: Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Neuropsychopharmacology*, 37(9), 2093-2100. doi: 10.1038/npp.2012.58
258. Shanks, N., Griffiths, J., & Anisman, H. (1994). Norepinephrine and serotonin alterations following chronic stressor exposure: Mouse strain differences. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 49(1), 57-65. doi: 10.1016/0091-3057(94)90456-1
259. Sheline, Y., Wang, P., Gado, M., Csernansky, J., & Vannier, M. (1996). Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 93(9), 3908-3913. doi: 10.1073/pnas.93.9.3908
260. Shimozaki K, Clemenson GD Jr, Gage FH (2013) Paired related homeobox protein 1 is a regulator of stemness in adult neural stem/ progenitor cells. *Journal of Neuroscience* 33:4066–4075

261. Sierra, A., Encinas, J., & Maletic-Savatic, M. (2011). Adult Human Neurogenesis: From Microscopy to Magnetic Resonance Imaging. *Frontiers In Neuroscience*, 5. doi: 10.3389/fnins.2011.00047
262. Smith, K. (2014). Mental health: A world of depression. *Nature*, 515(7526), 180-181. doi: 10.1038/515180^a
263. Snyder, J., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J., & Cameron, H. (2011). Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature*, 476(7361), 458-461. doi: 10.1038/nature10287
264. Song J, Sun J, Moss J, Wen Z, Sun GJ, Hsu D, Zhong C, Davoudi H, Christian KM, Toni N, Ming GL, Song H (2013) Parvalbumin interneurons mediate neuronal circuitry-neurogenesis coupling in the adult hippocampus. *Nature Neuroscience* 16:1728–1730
265. Song J, Zhong C, Bonaguidi MA, Sun GJ, Hsu D, Gu Y, Meletis K, Huang ZJ, Ge S, Enikolopov G, Deisseroth K, Luscher B, Christian KM, Ming GL, Song H (2012) Neuronal circuitry mechanism regulating adult quiescent neural stem-cell fate decision. *Nature* 489:150–154
266. Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Bostrom E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H., y Frisen J (2013) Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 153:1219–1227
267. Spector, R., y Johanson, C. E. (2007). The origin of deoxynucleosides in brain: implications for the study of neurogenesis and stem cell therapy. *Pharmacology Reasearch*. 24, 859–867.
268. Stockmeier, C. A., Mahajan, G. J., Konick, L. C., Overholser, J. C., Jurjus, G. J., Meltzer, H. Y., Uylings, H. B., Friedman, L., y Rajkowska, G. (2004). Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biological Psychiatry* 56, 640–650
269. Suh, H., Consiglio, A., Ray, J., Sawai, T., D'Amour, K., & Gage, F. (2007). In Vivo Fate Analysis Reveals the Multipotent and Self-Renewal Capacities of Sox2+ Neural Stem Cells in the Adult Hippocampus. *Cell Stem Cell*, 1(5), 515-528. doi: 10.1016/j.stem.2007.09.002
270. Suhonen, J., Peterson, D., Ray, J., & Gage, F. (1996). Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons in vivo. *Nature*, 383(6601), 624-627. doi: 10.1038/383624a0
271. Sullivan, P., & Brown, M. (2005). Mitochondrial aging and dysfunction in Alzheimer's disease. *Progress In Neuro-Psychopharmacology And Biological Psychiatry*, 29(3), 407-410. doi: 10.1016/j.pnpbp.2004.12.007
272. Sultan S, Li L, Moss J, Petrelli F, Casse F, Gebara E, Lopatar J, Pfrieder FW, Bezzi P, Bischofberger J, Toni N (2015) Synaptic integration of adult-born Hippocampal neurons is locally controlled by Astrocytes. *Neuron* 88:957–972
273. Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E., Laugeray, A., Rainer, Q., & Touma, C. et al. (2011). Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Molecular Psychiatry*, 16(12), 1177-1188. doi: 10.1038/mp.2011.48
274. Szulwach KE, Li X, Smrt RD, Li Y, Luo Y, Lin L, Santistevan NJ, Li W, Zhao X, Jin P (2010) Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis. *Journal of Cell Biology* 189:127–141

275. Tannenbaum, B., & Anisman, H. (2003). Impact of chronic intermittent challenges in stressor-susceptible and resilient strains of mice. *Biological Psychiatry*, 53(4), 292-303. doi: 10.1016/s0006-3223(02)01487-7
276. Tannenbaum, B., Tannenbaum, G., & Anisman, H. (2003). Impact of life-long macronutrient choice on neuroendocrine and cognitive functioning in aged mice: differential effects in stressor-reactive and stressor-resilient mouse strains. *Brain Research*, 985(2), 187-197. doi: 10.1016/s0006-8993(03)03196-2
277. Tanti, A., & Belzung, C. (2013). Neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus: Are depression and the action of antidepressants region-specific?. *Neuroscience*, 252, 234-252. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.08.017
278. Tashiro A, Sandler VM, Toni N, Zhao C, Gage FH (2006) NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* 442:929–933
279. Tashiro, A., Makino, H., & Gage, F. (2007). Experience-Specific Functional Modification of the Dentate Gyrus through Adult Neurogenesis: A Critical Period during an Immature Stage. *Journal Of Neuroscience*, 27(12), 3252-3259. doi: 10.1523/jneurosci.4941-06.2007
280. Tata, DA., y Anderson, B. J. (2010). The effects of chronic glucocorticoid exposure on dendritic length, synapse numbers and glial volume in animal models: implications for hippocampal volume reductions in depression. *Physiology & Behaviour*. 99, 186–193
281. Taverna, E., Götz, M., & Huttner, W. (2014). The Cell Biology of Neurogenesis: Toward an Understanding of the Development and Evolution of the Neocortex. *Annual Review Of Cell And Developmental Biology*, 30(1), 465-502. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155801
282. Temprana SG, Mongiat LA, Yang SM, Trinchero MF, Alvarez DD, Kropff E, Giacomini D, Beltramone N, Lanuza GM, Schinder AF (2015) Delayed coupling to feedback inhibition during a critical period for the integration of adult-born granule cells. *Neuron* 85: 116–130
283. Timonen, M., Salmenkaita, I., Jokelainen, J., Laakso, M., Härkönen, P., & Koskela, P. et al. (2007). Insulin Resistance and Depressive Symptoms in Young Adult Males: Findings From Finnish Military Conscripts. *Psychosomatic Medicine*, 69(8), 723-728. doi: 10.1097/psy.0b013e318157ad2e
284. Toda T, Hsu JY, Linker SB, Hu L, S.T. Schafer, Mertens J, Jacinto FV, Hetzer MW, Gage FH (2017) Nup153 interacts with Sox2 to enable bimodal gene regulation and maintenance of neural progenitor cells. *Cell Stem Cell* 21:619–634.e7. (in press)
285. Toda, T., Homma, D., Tokuoka, H., Hayakawa, I., Sugimoto, Y., Ichinose, H., & Kawasaki, H. (2013). Birth Regulates the Initiation of Sensory Map Formation through Serotonin Signaling. *Developmental Cell*, 27(1), 32-46. doi: 10.1016/j.devcel.2013.09.002
286. Toda, T., y Gage, H. (2018). Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell and Tissue Research* 373(3):693-709
287. Toni N, Teng EM, Bushong EA, Aimone JB, Zhao C, Consiglio A, van Praag H, Martone ME, Ellisman MH, Gage FH (2007) Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nature Neuroscience* 10:727–734
288. Tontonoz, P., y Spiegelman BM. (1994). Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*; 79: 1147-56
289. Torres-Platas, S., Comeau, S., Rachalski, A., Bo, G., Cruceanu, C., & Turecki, G. et al. (2014). Morphometric characterization of microglial phenotypes in

- human cerebral cortex. *Journal Of Neuroinflammation*, 11(1), 12. doi: 10.1186/1742-2094-11-12
290. Tsokas, P. (2005). Local Protein Synthesis Mediates a Rapid Increase in Dendritic Elongation Factor 1A after Induction of Late Long-Term Potentiation. *Journal Of Neuroscience*, 25(24), 5833-5843. doi: 10.1523/jneurosci.0599-05.2005
291. Urruticoechea, A., Smith, I., & Dowsett, M. (2005). Proliferation Marker Ki-67 in Early Breast Cancer. *Journal Of Clinical Oncology*, 23(28), 7212-7220. doi: 10.1200/jco.2005.07.501
292. van Praag H, Kempermann G, Gage FH (1999) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience* 2:266–270
293. Varga, T., Czimmerer, Z., & Nagy, L. (2011). PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis Of Disease*, 1812(8), 1007-1022. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.02.014
294. Villeda, S., Luo, J., Mosher, K., Zou, B., Britschgi, M., & Bieri, G. et al. (2011). The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. *Nature*, 477(7362), 90-94. doi: 10.1038/nature10357
295. Vollmayr, B., Mahlstedt, M. M., y Henn, F. A. (2007). Neurogenesis and depression: what animal models tell us about the link *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 257, 300–303
296. Vythilingam, M., Heim, C., Newport, J., Miller, A., Anderson, E., & Bronen, R. et al. (2002). Childhood Trauma Associated With Smaller Hippocampal Volume in Women With Major Depression. *American Journal Of Psychiatry*, 159(12), 2072-2080. doi: 10.1176/appi.ajp.159.12.2072
297. Wada, K., Nakajima, A., Katayama, K., Kudo, C., Shibuya, A., & Kubota, N. et al. (2006). Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ -mediated Regulation of Neural Stem Cell Proliferation and Differentiation. *Journal Of Biological Chemistry*, 281(18), 12673-12681. doi: 10.1074/jbc.m513786200
298. Wang S, Scott BW, Wojtowicz JM. (2000). Heterogenous properties of dentate granule neurons in the adult rat. *Journal of Neurobiology* 42:248– 257
299. Watkins, P., & Whitcomb, R. (1998). Hepatic Dysfunction Associated with Troglitazone. *New England Journal Of Medicine*, 338(13), 916-917. doi: 10.1056/nejm199803263381314
300. Willner, P. (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, 134(4), 319-329. doi: 10.1007/s002130050456
301. Wong, M., & Licinio, J. (2001). Research and treatment approaches to depression. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(5), 343-351. doi: 10.1038/35072566
302. Xu, H., Wang, Z., Li, J., Wu, H., Peng, Y., & Fan, L. et al. (2017). The Polarization States of Microglia in TBI: A New Paradigm for Pharmacological Intervention. *Neural Plasticity*, 2017, 1-11. doi: 10.1155/2017/5405104
303. Xu, J., Barger, S. W., & Drew, P. D. (2008). The PPAR-gamma Agonist 15-Deoxy-Delta-Prostaglandin J(2) Attenuates Microglial Production of IL-12 Family Cytokines: Potential Relevance to Alzheimer's Disease. *PPAR research*, 2008, 349185. <https://doi.org/10.1155/2008/349185>

304. Yoshimura, R., Hori, H., Ikenouchi-Sugita, A., Umene-Nakano, W., Ueda, N., & Nakamura, J. (2009). Higher plasma interleukin-6 (IL-6) level is associated with SSRI- or SNRI-refractory depression. *Progress In Neuro-Psychopharmacology And Biological Psychiatry*, 33(4), 722-726. doi: 10.1016/j.pnpbp.2009.03.020
305. Young, E. (1994). Increased Evening Activation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Depressed Patients. *Archives Of General Psychiatry*, 51(9), 701. doi: 10.1001/archpsyc.1994.03950090033005
306. Young, L., Dowlatsahi, D., MacQueen, G., & Wang, J. (1998). Increased temporal cortex CREB concentrations and antidepressant treatment in major depression. *The Lancet*, 352(9142), 1754-1755. doi: 10.1016/s0140-6736(05)79827-5
307. Yousef, H., Morgenthaler, A., Schlesinger, C., Bugaj, L., Conboy, I., & Schaffer, D. (2015). Age-Associated Increase in BMP Signaling Inhibits Hippocampal Neurogenesis. *STEM CELLS*, 33(5), 1577-1588. doi: 10.1002/stem.1943
308. Zacharko, R., & Anisman, H. (1989). Pharmacological, Biochemical, and Behavioral Analyses of Depression: Animal Models. *Animal Models Of Depression*, 204-238. doi: 10.1007/978-1-4684-6762-8_11
309. Zhang CL, Zou Y, He W, Gage FH, Evans RM (2008) A role for adult TLX-positive neural stem cells in learning and behaviour. *Nature* 451:1004–1007