



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**CAMBIOS EN LA MODULACIÓN DE LAS CORRIENTES POSTSINÁPTICAS POR
RECEPTORES NICOTÍNICOS EN LA CORTEZA PREFRONTAL DE RATAS
ADOLESCENTES CON CONDUCTAS TIPO DEPRESIVAS**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:
BIÓL. JASSIEL MEJÍA PIEDRAS

TUTOR PRINCIPAL:
DR. JOSÉ JESÚS GARCÍA COLUNGA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
DRA. GINA LORENA QUIRARTE
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM

DR. DAVID ERASMO GARCÍA DÍAZ
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

QUERÉTARO, QRO., MÉXICO, AGOSTO 2023



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Jassiel Mejía Piedras, cuyo título es: “Cambios en la modulación de las corrientes postsinápticas por receptores nicotínicos en la corteza prefrontal de ratas adolescentes con conductas tipo depresivas” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la Coordinación General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente: Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda

Secretario: Dr. José Jesús García Colunga

Vocal: Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez

Suplente: Dra. Gina Lorena Quirarte

Suplente: Dr. José Fernando Peña Ortega

Coordinador del Programa: Dr. Gerardo Rojas Piloni

Agradecimientos institucionales

Al Programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (CVU 1074312) y a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, (PAPIIT-UNAM: IN202420, IN206423 e IN209822) por el apoyo financiero para el desarrollo del proyecto de investigación.

Al Instituto de Neurobiología de la UNAM y a la Coordinación General de Estudios de Posgrado de la UNAM.

Al Dr. José Jesús García Colunga por su tutoría, amistad y su valioso apoyo en la realización del presente trabajo. Gracias por sus consejos y enseñanzas, tanto en lo académico como en lo personal.

A la Dra. Elizabet Vázquez Gómez y al M. en C. Andy Brian Hernández Abrego por su amistad y apoyo técnico en el desarrollo del presente trabajo.

A la Dra. Gina Lorena Quirarte y al Dr. David Erasmo García Díaz, miembros del Comité Tutor, por sus valiosos aportes, comentarios y sugerencias a lo largo de toda la maestría.

A los miembros del jurado: Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda, Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez y Dr. José Fernando Peña Ortega, por su tiempo y dedicación para la revisión, corrección y comentarios al presente escrito.

Al Dr. Antonio Fuentes Ibañez por su amistad y valioso apoyo en la conceptualización, el desarrollo experimental y la escritura del presente proyecto.

Al M. en C. Jesús Ayala Rodríguez por su amistad y ayuda en el desarrollo experimental del proyecto.

A Norma Serafín López por el apoyo técnico brindado.

A Bernardino Osorio por su ayuda como laboratorista.

Al Coordinador del Programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología): Dr. Gerardo Rojas Piloni

A la Unidad de Enseñanza: Dra. Nuri Aranda, Carmen Mendoza y Emilia Moreno

A la Unidad de Bioterio: Dr. Martín García Servín, Dra. Alejandra Castilla León y Dra. María Carbajo

A la Unidad de Análisis Conductual: Dra. Deisy Gasca Martínez

A la Unidad de Cómputo: Ramón Martínez, Omar González y María Rosas

A la Unidad de Videoconferencia: Lourdes Lara y Moisés Mendoza

Al Dr. Javier Valles, Coordinador de la Biblioteca del Campus Juriquilla

Agradecimientos personales

A todos los integrantes del Laboratorio de Comunicación Intercelular y Neurotransmisión y del Laboratorio de Aprendizaje y Memoria.

A mi novia Lupita Meza Carmona, por todos los años que hemos estado juntos y por todo el cariño y amor que me has dado. Te amo.

A mis abuelitas, Ernestina Ramírez Montiel y Reynalda Bonilla Mejía, por su amor y apoyo. Las quiero mucho.

A mi tía Bertha Piedras Ramírez, tu apoyo siempre ha estado presente y ha sido muy importante durante toda mi vida. Te quiero mucho tía.

A mis hermanos Carlos Arturo Mejía Piedras y Cristian Mejía Piedras, gracias por su guía y el apoyo que siempre me han brindado. Los quiero muchos hermanos.

Al resto de mi familia, tíos, primos y sobrino, he aprendido mucho de cada uno de ustedes y aprecio su cariño y apoyo. Los quiero familia.

A la memoria de mis abuelitos: Juan Mejía Méndez y Teódulo Piedras Montiel, siempre los recordaré y estarán presentes en mi vida.

Por último, a las personas que siempre han creído en mí y que gracias a su apoyo incondicional he podido cumplir un objetivo más, mis padres Arturo Mejía Bonilla e Ivette Jaquelin Piedras Ramírez, esto no lo puede haber logrado sin ustedes. Los amo.

Dedicatoria

A mi familia

Lista de abreviaturas

CPFm	Corteza prefrontal medial
DP	Día postnatal
I_{Nic}	Corriente activada con acetilcolina
IEI	Intervalo entre eventos
i.p.	Inyección intraperitoneal
IMI	Imipramina
LPS	Lipopolisacáridos / Grupo LPS
LPS-IMI	Grupo tratado con lipopolisacáridos e Imipramina
LPS-VEH	Grupo tratado con lipopolisacáridos y vehículo
PrL	Área prelímbica
sIPSCs	Corrientes postsinápticas inhibitoras
sPSCs	Corrientes postsinápticas espontáneas
SCEA	Solución Cerebro Espinal Artificial
VEH	Vehículo (solución salina) / Grupo vehículo
VEH-VEH	Grupo tratado con doble vehículo
V_H	Voltaje de mantenimiento

ÍNDICE

Resumen	XI
Abstract	XII
1. Introducción	9
2. Antecedentes.....	11
2.1 Depresión	11
2.1.1 Hipótesis de la depresión.....	12
2.2 Depresión en adolescentes.....	13
2.2.1 Modelos de depresión en animales.....	14
2.2.2 Modelo de depresión por inyección de lipopolisacáridos	16
2.2.3 El modelo de inyección de lipopolisacáridos para el estudio de la depresión en animales.....	17
2.3 La corteza prefrontal medial como una estructura central en la depresión	19
2.3.1 La corteza prefrontal medial y su papel en la regulación emocional y la depresión .	21
2.3.2 Cambios funcionales en las neuronas de la corteza prefrontal medial relacionados con la depresión	21
2.3.3 Estudios electrofisiológicos en modelos animales	22
2.3.4 Balance en la excitación e inhibición en la corteza prefrontal medial.....	22
2.4 Receptores nicotínicos y su relación con la depresión.....	23
2.4.1 Receptores nicotínicos en la corteza prefrontal medial.....	25
3. Justificación	28
4. Hipótesis.....	29
5. Objetivos.....	29
5.1 Objetivo general	29
5.2 Objetivos particulares.....	29
6. Materiales y Métodos	30
6.1 Declaración de ética.....	30
6.2 Sujetos	30
6.3 Diseño experimental.....	30
6.3.1. Experimento uno	30
6.3.2. Experimento dos	30
6.4 Administración de sustancias.....	32
6.5 Procedimientos conductuales.....	32
6.5.1 Prueba de nado forzado.....	32
6.5.2 Prueba de campo abierto.....	33
6.6 Rebanadas de cerebro y registro electrofisiológico.....	34
6.6.1 Preparación de rebanadas de cerebro.....	34

6.6.2 Registro electrofisiológico con la técnica de fijación de voltaje en configuración de célula completa	34
6.6.3 Adición de compuestos químicos.....	36
6.7 Análisis de datos	36
7. Resultados.....	37
7.1 Experimento uno	37
7.1.1 El tratamiento de LPS disminuyó la ganancia de peso corporal de ratas adolescentes.....	37
7.1.2 El tratamiento de LPS promovió conductas tipo depresivas en ratas adolescentes.....	38
7.1.3 El LPS disminuyó las corrientes postsinápticas espontáneas del área prelímbica en ratas adolescentes	39
7.1.4 El LPS disminuyó las corrientes postsinápticas inhibitoras de ratas adolescentes.....	40
7.1.5 El LPS afectó la modulación de las sIPSCs por receptores nicotínicos en el área prelímbica de la corteza prefrontal medial de rata adolescentes	41
7.2 Experimento dos	44
7.2.1 Imipramina en la ganancia de peso corporal	44
7.2.2 El tratamiento con imipramina atenuó la conducta tipo depresiva en ratas adolescentes.....	45
7.2.3 La Imipramina revirtió los efectos promovidos por el LPS en las corrientes postsinápticas espontáneas del área prelímbica en ratas adolescentes	46
7.2.4 La imipramina revirtió los efectos del LPS en las corrientes postsinápticas inhibitoras espontáneas	47
7.2.5 La imipramina recuperó la modulación de las IPSCs por receptores nicotínicos en el área prelímbica de la CPFm.....	48
8. Discusión	51
9. Conclusión.....	60
10. Perspectivas	62
11. Referencias	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelos animales de depresión.	15
Figura 2. Estructura y señalización del LPS.	17
Figura 3. Efectos del LPS en ratas tratadas con LPS.	18
Figura 4. Corteza prefrontal medial de rata.	20
Figura 5. Subtipos de receptores nicotínicos en el cerebro de roedor.	25
Figura 6. Capas de la CPFm y receptores nicotínicos.	26
Figura 7. Diseño experimental.	31
Figura 8. Equipo usado para las pruebas conductuales.	33
Figura 9. Equipo para realizar los registros electrofisiológicos.	35
Figura 10. Efectos del LPS en el peso corporal en el experimento uno.	37
Figura 11. Efectos de la inyección de LPS en las pruebas conductuales.	38
Figura 12. Efecto del LPS en las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs) registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes.	40
Figura 13. Efecto del LPS en las corrientes postsinápticas inhibitoras espontáneas (sIPSCs) registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes.	41
Figura 14. Efecto del LPS en la modulación de las IPSCs por nicotina en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes.	42
Figura 15. Efecto del MLA en las IPSCs registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm.	43
Figura 16. Efectos del LPS en el peso corporal en el experimento dos.	44
Figura 17. La inyección de imipramina no ocasiono cambios en el peso corporal de los grupos tratados con LPS.	45
Figura 18. Efectos de la inyección de LPS e imipramina en las pruebas conductuales.	46
Figura 19. Efecto del LPS e imipramina en las sPSCs registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes.	47
Figura 20. Efecto del LPS e imipramina en las sIPSCs registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes.	48
Figura 21. Efecto del LPS e imipramina en la modulación de las IPSCs por nicotina en neuronas registradas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes.	49
Figura 22. Efecto de la DH β E en las IPSCs registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm.	50

Figura 23. *Esquema que resume las alteraciones provocadas por el modelo de LPS.* 59

Resumen

La depresión es un trastorno neuropsiquiátrico complejo que se considera la principal causa de discapacidad a nivel mundial. Aunque la etiología y los mecanismos de este aún no están claros, se ha propuesto que la corteza prefrontal es una región cerebral crucial en la fisiopatología de la depresión. Además, esta región no está plenamente desarrollada en la adolescencia, que es un periodo crítico para el desarrollo físico y mental. Por otra parte, y aunque los lipopolisacáridos (LPS) se han utilizado de manera habitual para inducir un modelo de depresión relacionado con la neuroinflamación en roedores adultos, su efecto en la etapa de adolescencia no ha sido del todo explorado. También se sabe que la actividad de los receptores de acetilcolina nicotínicos puede mediar procesos antiinflamatorios y suprimir conductas tipo depresivas. En este trabajo estudiamos en ratas adolescentes sometidas a un modelo de depresión por inyección de LPS, la conducta tipo depresiva, la modulación de las corrientes postsinápticas por los receptores nicotínicos en neuronas de la corteza prefrontal, y la posible reversión de los efectos del LPS mediante el antidepressivo tricíclico imipramina. Para ello utilizamos ratas macho de la cepa "Sprague Dawley" de 30 días de edad postnatal, a las que se inyectó LPS (i.p. 500 µg/kg) o vehículo cada dos días durante dos semanas. A un subgrupo se le inyectó imipramina (i.p. 15 mg/kg) 24 horas después de la última inyección de LPS y 1 hora antes de las pruebas conductuales. Posteriormente, realizamos las pruebas de nado forzado y campo abierto para valorar la conducta tipo depresiva, seguido de registros de corrientes postsinápticas utilizando la técnica de fijación de voltaje en neuronas de la corteza prefrontal para evaluar cambios en estas corrientes. Nuestros resultados muestran que el LPS indujo conducta tipo depresiva en ratas adolescentes, ya que el tiempo de inmovilidad aumentó en la prueba de nado forzado, al igual que disminuyó la distancia recorrida y el número de episodios verticales en la prueba de campo abierto. También, disminuyó la frecuencia de las corrientes postsinápticas espontáneas totales e inhibitoras, y no hubo modulación positiva de estas corrientes por receptores nicotínicos, en donde participa principalmente el subtipo $\alpha 7$. La imipramina atenuó las conductas tipo depresivas y recuperó las corrientes postsinápticas. En conjunto, nuestros resultados sugieren que las conductas tipo depresivas inducidas por LPS en ratas adolescentes podría deberse, en parte, a las alteraciones en las corrientes sinápticas inhibitoras y a la actividad de los receptores nicotínicos. Estos hallazgos aportan nueva información sobre la participación de los receptores nicotínicos en la depresión durante la adolescencia.

Abstract

Depression is a complex neuropsychiatric disorder that is considered the leading cause of disability worldwide. Although the etiology and mechanisms remain unclear, it has been proposed that the prefrontal cortex is a crucial brain region in the pathophysiology of depression. Moreover, this region is not fully developed in adolescence, which is a critical period for physical and mental development. Although the lipopolysaccharides (LPS) have been commonly used to induce a neuroinflammation-related model of depression in adult rodents, their effect on the adolescent stage has not been fully explored. It is also known that nicotinic acetylcholine receptors activity can mediate anti-inflammatory processes and suppress depressive-like behaviors. In this work we studied, in adolescent rats subjected to a model of depression by LPS injection, depressive-like behavior, the modulation of postsynaptic currents by nicotinic receptors in neurons of the prefrontal cortex, and the possible reversal of the effects of LPS by the tricyclic antidepressant imipramine. For this purpose, we used 30-day postnatal male Sprague Dawley rats injected with LPS (i.p. 500 µg/kg) or vehicle every two days for two weeks. A subgroup was injected with imipramine (i.p. 15 mg/kg) 24 h after the last LPS injection and 1 h before behavioral testing. Subsequently, we performed the forced swim and open-field tests to assess depressive-like behavior, followed by recordings of postsynaptic currents using the voltage-clamp technique in neurons of the prefrontal cortex to assess changes in these currents. Our results show that LPS induced depressive-like behavior in adolescent rats, as immobility time increased in the forced swim test, as well as decreased distance traveled and number of vertical episodes in the open field test. Also, it decreased the frequency of total spontaneous and inhibitory postsynaptic currents, and there was no positive modulation of these currents by nicotinic receptors, where the $\alpha 7$ subtype mainly participates. Imipramine attenuated depressive-like behaviors and recovered postsynaptic currents. Overall, our results suggest that LPS-induced depressive-like behaviors in adolescent rats could be due, in part, to alterations in inhibitory synaptic currents and nicotinic receptor activity. These findings provide new insights into the involvement of nicotinic receptors in depression during adolescence.

1. Introducción

El trastorno depresivo mayor, conocido como depresión, es una enfermedad común, pero muy severa que disminuye la calidad de vida y se estima que afecta a más de 300 millones de personas en el mundo (WHO, 2021a). De las etapas del desarrollo, la adolescencia es una etapa de transición crucial en la vida de un individuo, esto debido a que se presentan una serie de cambios físicos, emocionales y cognitivos, que pueden ser influenciados por factores ambientales y socioculturales (Mao et al., 2019; Remes et al., 2021). Durante el periodo de la adolescencia, es un periodo crítico ya que el cerebro sigue en desarrollo de las áreas corticales regulatorias de estos estados emocionales y cognitivos, por lo que cualquier alteración ambiental, puede provocar cambios en la integración de los circuitos corticales que regula funciones como el estado de ánimo y las emociones. Por lo que esta etapa del ciclo de vida representa un tiempo de vulnerabilidad, donde se pueden desarrollar diferentes trastornos neuropsiquiátricos, como la depresión, cuya incidencia va en aumento entre los adolescentes (CDC, 2020; Shorey et al., 2022).

La corteza prefrontal es una región cerebral crítica para la regulación emocional y la conducta dirigida a metas. Esta experimenta un proceso de maduración significativo durante la adolescencia, por lo que en esta ventana de tiempo es susceptible a cambios en su estructura y funcionamiento (Drzewiecki & Juraska, 2020). Por otra parte, la neuroinflamación se le ha relacionado que puede afectar el funcionamiento cerebral correcto, siendo la corteza prefrontal la más afectada, así como regiones relacionadas con la depresión, como es la formación hipocampal (Han & Ham, 2021). Diferentes estudios han sugerido que la neuroinflamación puede contribuir al desarrollo y/o agravamiento de la depresión, por lo que se ha propuesto como un biomarcador para esta enfermedad (Zonca, 2021). Además, el mecanismo del porqué ocurre la depresión, se propone a través de la alteración en la conectividad cerebral, afectando el balance excitación/inhibición en la corteza prefrontal, que está implicado en la depresión (Chen et al., 2022; Page & Coutellier, 2019).

Un elemento que puede modular tanto la excitabilidad neuronal y la neuroinflamación son los receptores de acetilcolina nicotínicos. Estos son receptores acoplados a membrana que se expresan de manera amplia en todo el cerebro, incluyendo

la corteza prefrontal (Gotti et al., 2006). Se ha descrito que participan modulando la liberación de neurotransmisores, como glutamato y GABA, así como en procesos antiinflamatorios (Albuquerque et al., 2009; Alzarea & Rahman, 2019), pero el potencial terapéutico de los receptores nicotínicos en un modelo de depresión relacionado con la neuroinflamación en la adolescencia no ha sido de todo explorado. Un antidepresivo que ha mostrado tener propiedades antiinflamatorias es la imipramina (Ramirez et al., 2015), que es un antidepresivo tricíclico derivado de la dibenzazepina que fue aprobado para su uso por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) desde 1950. Es un inhibidor de la recaptura de serotonina y norepinefrina, teniendo más afinidad al transportador de la recaptura de serotonina (Gillman, 2007). El mecanismo de acción de la imipramina reside en el aumento en la disponibilidad de serotonina y norepinefrina al inhibir la recaptura de serotonina en el sistema nervioso central. Para realizar esta acción se une al transportador dependiente de sodio de serotonina y norepinefrina, respectivamente, lo que reduce la recaptura de estos neurotransmisores por las neuronas presinápticas e incrementa su concentración en la hendidura sináptica. Este incremento de serotonina y norepinefrina tiene como resultado la activación de receptores en las neuronas postsinápticas, aumentando su neurotransmisión (Brunton et al., 2018), que junto con sus propiedades antiinflamatorias causan una mejora de los síntomas depresivos (Ramirez et al., 2015). Para investigar esto sometimos a ratas macho adolescentes a un modelo de depresión farmacológico por inyección de LPS y se evaluó la conducta tipo depresiva, así como su relación con los cambios en las corrientes postsinápticas de la corteza prefrontal usando la técnica de patch clamp, y posteriormente la administración de imipramina para revertir o atenuar los efectos del LPS. Se encontró que la inyección de LPS propició el desarrollo de conductas tipo depresivas evaluadas con las pruebas de nado forzado y campo abierto, teniendo mayor tiempo de inmovilidad y menor actividad exploratoria, respectivamente. También hubo alteraciones en las corrientes postsinápticas, totales e inhibitorias, en la corteza prefrontal medial, lo que podría estar relacionado con los cambios conductuales. Por otra parte, el tratamiento con imipramina aminoró la conducta tipo depresiva y recuperó las corrientes postsinápticas y su modulación por los receptores nicotínicos en la corteza prefrontal medial.

2. Antecedentes

2.1 Depresión

El trastorno de depresión mayor, comúnmente conocido como depresión, es una enfermedad mental que afecta aproximadamente a 300 millones de personas en el mundo (IHME, 2019). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, se encuentra entre las principales causas de discapacidad a nivel mundial (WHO, 2021a), causando importantes cargas sociales y económicas (Wohleb et al., 2016). Debido a su complejidad etiológica y sintomática, la depresión es considerada una enfermedad multifactorial.

De acuerdo con la quinta edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-V-TR) de la American Psychiatric Association (APA, 2022), se considera que una persona expresa depresión cuando tiene un periodo de al menos dos semanas con uno de los dos síntomas clave de la depresión, que son un estado de ánimo deprimido persistente o la pérdida de interés en realizar actividades (anhedonia), acompañada con al menos otros cuatro síntomas característicos (Tabla 1).

Tabla 1

Síntomas de la depresión

Criterios del DSM-V para el diagnóstico de la depresión
Estado de ánimo deprimido ^a
Disminución importante del interés o placer ^a
Pérdida o ganancia de peso
Insomnio o hipersomnio
Agitación o retraso psicomotor
Fatiga o pérdida de energía
Sentimiento de inutilidad o culpabilidad
Disminución en la capacidad para pensar o concentrarse
Pensamientos de muerte recurrentes

Nota. Criterios establecidos para el diagnóstico de la depresión en el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (APA, 2013).

^aPrincipales síntomas de la depresión.

Debido a la heterogeneidad sintomatológica, la depresión es una enfermedad incapacitante que afecta los ámbitos familiar, académico, profesional y social, impactando de manera negativa la calidad de vida de las personas que la sufren, y que al ser diagnosticadas son tratadas con terapias psicológicas (intrapersonal o cognitivo conductual) o con fármacos antidepresivos. En algunos casos los tratamientos se llevan a cabo de manera independiente, pero se ha propuesto que una combinación de ambos tiene mejores efectos que los tratamientos individuales (Cuijpers et al., 2013; NHS, 2019), esto debido en parte a que muchos pacientes presentan baja respuesta a fármacos antidepresivos, o falta de consistencia o eficacia en las terapias. También hay tratamientos alternativos que pueden mejorar el estado de ánimo de los pacientes deprimidos, como la terapia electroconvulsiva, un tratamiento clásico que ha mostrado ser efectivo, pero que tiene efectos secundarios, o la estimulación magnética transcraneal que se presenta como un tratamiento emergente con efectos positivos en pacientes con depresión, pero que requiere mayor validación científica (Lozano et al., 2019). Esta variedad de tratamientos brinda una idea directa de la naturaleza heterogénea de la depresión.

2.1.1 Hipótesis de la depresión

Debido a la incidencia e importancia de la depresión, en las últimas décadas se han llevado a cabo numerosas investigaciones para comprender mejor su fisiopatología; sin embargo, a pesar de todos estos esfuerzos, aún no se ha dilucidado completamente. A la fecha se han plantado diferentes hipótesis sobre la etiología y la patología de este trastorno, las principales son alteraciones en los neurotransmisores: 1) de las monoaminas (Albert et al., 2014; Goldberg et al., 2014), del equilibrio GABA-glutamato (Pehrson & Sanchez, 2015; Sanacora et al., 2012), del equilibrio monoaminas-acetilcolina (Drevets et al., 2013; Mineur & Picciotto, 2010; 2) estrés y otros factores psicológicos (Bao et al., 2008) y 3), neuroinflamación (Furtado & Katzman, 2015; Wohleb et al., 2016). Cada una de estas hipótesis ayuda a entender cómo la depresión puede estar afectando al sistema nervioso central en diferentes aspectos, como su morfología, la transmisión sináptica, neurogénesis, neuroplasticidad, expresión de receptores, etc.

Las diferentes hipótesis y los diversos efectos que tiene la depresión en el sistema nervioso central nos indican la gran heterogeneidad de este trastorno, y a su vez la dificultad que hay para estudiarlo. A pesar de la prevalencia y los avances recientes en el estudio de la depresión, aun es necesario tener una mejor comprensión de sus bases neurofisiopatológicas. Para esto, es importante abordar su estudio desde diferentes enfoques, tomando los elementos neurobiológicos clave que participan en este trastorno, al igual que explorar si lo reportado en adultos también se observa en otras etapas de desarrollo como la adolescencia, una etapa de transición importante en la que cada vez más individuos son afectados por la depresión.

2.2 Depresión en adolescentes

Aunque la depresión puede presentarse en cualquier etapa de la vida de una persona, cada vez es más común que ocurra en la adolescencia (12-18 años), por lo que es uno de los trastornos más comunes entre los adolescentes (WHO, 2021b), afectando de manera importante el desarrollo emocional, físico, social, académico y familiar (Thapar et al., 2012; Vogel, 2012). El período que comprende la adolescencia es una ventana de tiempo crítica del desarrollo neurobiológico, donde las conexiones y los circuitos neuronales pueden reestructurarse después de las etapas tempranas de desarrollo y lograr apropiados estados físico y mental (Sturman & Moghaddam, 2011). Es por esto por lo que la adolescencia es una etapa en la que los jóvenes pueden ser especialmente vulnerables a la depresión.

La depresión aumenta notablemente después de que los niños llegan a la adolescencia, con una prevalencia de 4-8% (WHO, 2017). Este trastorno representa un problema de salud grave entre los adolescentes, ya que en esta etapa tiende a ser más crónica y debilitante que cuando se presenta en la edad adulta (Lewinsohn, 1999; Rice et al., 2019). Si no es diagnosticada y tratada a tiempo, puede repercutir durante meses o incluso años en la calidad de vida de los adolescentes, pudiendo afectar hasta la edad adulta o durante toda su vida (Johnson et al., 2018, WHO, 2021b). En la adolescencia, el diagnóstico de la depresión es más desafiante, ya que es más complicado identificar si están sufriendo altibajos temporales en el estado de ánimo o sentimientos de tristeza

transitorios. Lo anterior es una de las principales razones del porqué muchos adolescentes no son tratados por depresión, lo que compromete su salud mental, que se ve seriamente perjudicada (Rafful et al., 2012).

En los Estados Unidos, en el año 2021 el 15.08% de jóvenes experimentó un episodio depresivo y de estos 10.6% tienen depresión severa (Reinert et al., 2021), Por lo que la depresión es un factor de riesgo importante para el suicidio entre los adolescentes, de los cuales el 8% que fueron diagnosticados con depresión cometieron suicidio en la edad adulta joven, estableciendo al suicidio en la segunda causa de muerte entre los adolescentes de 12 a 17 años (Carrellas et al., 2017; O'Connor et al., 2016). Debido a la alta prevalencia de la depresión en la etapa pediátrica, es probable que un porcentaje alto de niños y adolescentes estén siendo afectados por manifestaciones tempranas o episódicas de este trastorno antes de que su desarrollarlo se complete (Carrellas et al., 2017).

Comprender como la depresión afecta a los adolescentes es crucial debido a que su prevalencia va en aumento y puede tener un impacto a corto y a largo plazo, impactando seriamente su salud mental y su calidad de vida. El periodo de la adolescencia es un periodo crítico para la detección e intervención temprana de la depresión, ya que, si se comienza a tratar desde este periodo, su impacto negativo puede disminuir de manera significativa (Beames et al., 2021). Además, estudiar la depresión en la adolescencia puede proporcionar un panorama completo de los factores que contribuyen a la enfermedad en todas las edades. Una forma de explorar esto es mediante el uso de modelos animales para comprender mejor los mecanismos que subyacen a la depresión y, posteriormente, desarrollar enfoques terapéuticos.

2.2.1 Modelos de depresión en animales

Los modelos animales han sido de gran utilidad para entender y estudiar mejor diversas patologías del sistema nervioso a fin de comprender los mecanismos involucrados en cada una de ellas. Los modelos se centran en las sintomatologías clave de estas enfermedades, que en el caso de la depresión pueden ser la desesperanza, la anhedonia y la ansiedad, que pueden ser replicables en animales de laboratorio, usando pruebas

conductuales para medir estas sintomatologías, como la prueba de nado forzado, la preferencia de sacarosa y la prueba de campo abierto. Debido a la naturaleza heterogénea de la depresión hay una amplia variedad de modelos que pueden ser usados para su estudio, estos se clasifican en tres grupos (Figura 1): 1) Adversidad en la vida temprana, 2) causalidad biológica y 3) estrés en la edad adulta (Planchez et al., 2019).

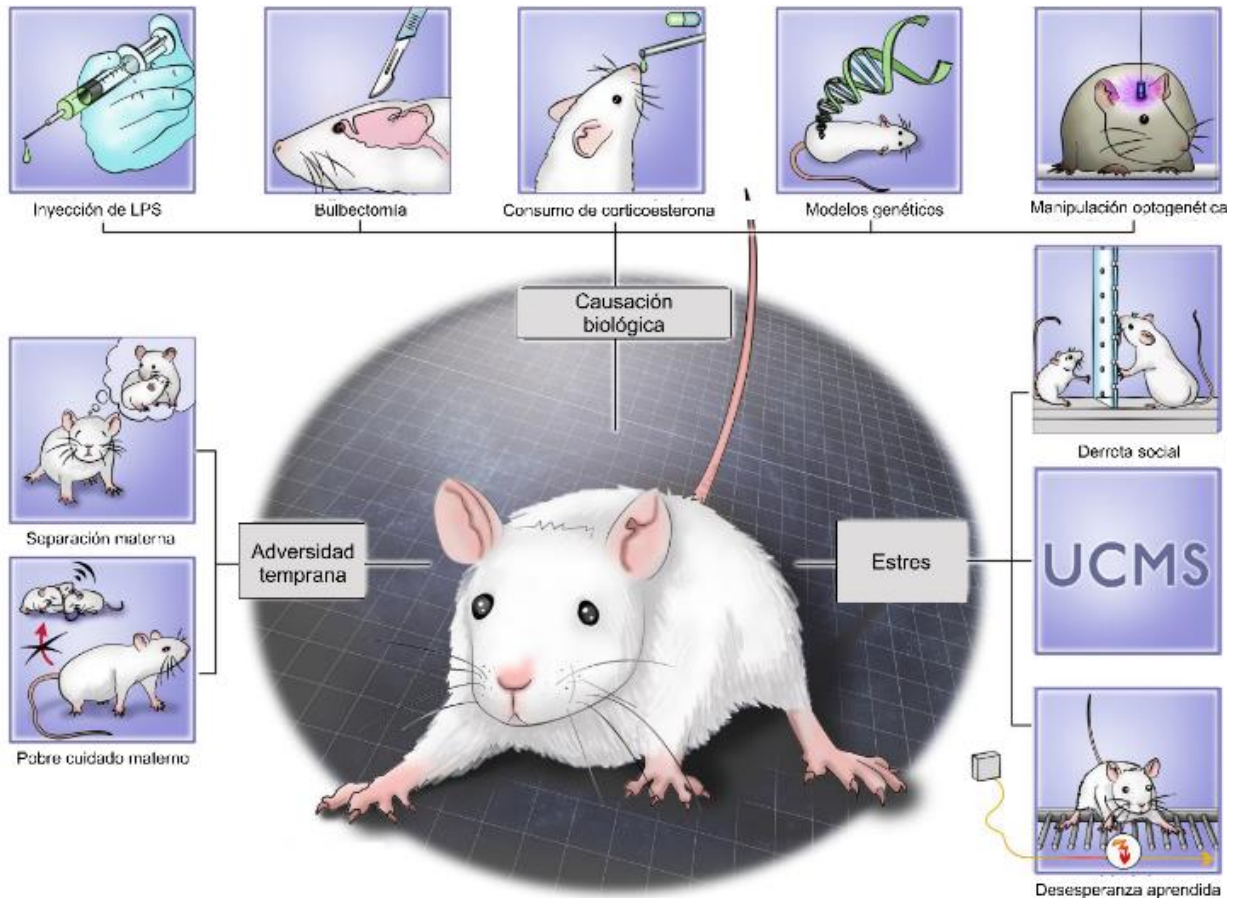


Figura 1. Modelos animales de depresión. Clasificación de los modelos de depresión empleados en roedores (Modificado de Planchez et al., 2019).

Estos modelos permiten el estudio de las alteraciones fisiológicas, morfológicas y conductuales causadas por la depresión, en organismos como la rata y el ratón. Algunos modelos presentan ciertas ventajas y desventajas, por lo que es importante la selección de un modelo que se acople mejor a la pregunta de investigación. Los modelos de

causación biológica permiten estudiar las alteraciones neurobiológicas que están implicadas en la depresión, como los cambios en los niveles de ciertos neurotransmisores, la neuroinflamación, entre otros. Uno de los modelos de causación biológica es el de inyección de lipopolisacáridos (LPS) que, aunque ciertamente no replica la complejidad de la depresión en humanos, permite estudiar la relación de esta con factores neuroinflamatorios y neuroquímicos.

2.2.2 Modelo de depresión por inyección de lipopolisacáridos

Un modelo de reciente uso y que ha mostrado desarrollar síntomas clave de la depresión en roedores es la inyección de LPS (Bian et al., 2020; Dang et al., 2018). El LPS es una molécula de la pared celular de bacterias Gram negativas, como la *Escherichia coli*, siendo el principal componente de esta estructura y el producto microbiano responsable de crear una respuesta inflamatoria (Zhang et al., 2019). El LPS está conformado por tres dominios ligados entre sí de manera covalente (Figura 2A): 1) la porción glicolípida (lípidos A), 2) la región del núcleo del polisacárido y 3) la cadena O-específica (antígeno O), siendo el lípido A la unidad biológicamente activa (principio endotóxico), y el centro de actividad inmunorreactiva.

El mecanismo general de señalización del LPS (Figura 2B) ha sido bien descrito (Mazgaeen & Gurung, 2020). En el caso del LPS y otras endotoxinas en mamíferos, la detección y señalización de estos está mediada por la proteína de unión a LPS (LBP), la cual se une al lípido A, extrae monómeros de LPS, los solubiliza y los transfiere al grupo de diferenciación 14 (CD14). Esta glicoproteína se encarga de transferir el monómero de LPS al factor de diferenciación mieloide 2 (MD-2), que posteriormente se une a los receptores tipo Toll 4 (TLR4) en la membrana celular, formando el complejo TLR4/MD-2/LPS, conformado por dos moléculas de cada tipo (heterodímero), iniciando así la cascada de señalización intracelular. El complejo TLR4/MD-2/LPS puede activar dos vías de señalización, la del factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88) y la de TRIF (Proteína adaptadora que contiene el dominio TIR). En la vía de MyD88 activa y transloca el factor nuclear kappa B (NFκB), lo que provoca la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias como las interleucinas 1β (IL-1β), y la 6 (IL-6) así como el factor de

necrosis tumoral α (TNF- α), principalmente. Esta vía de MyD88 también activa la señalización de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), que regula la expresión de otras citocinas proinflamatorias. Por otro lado, la vía de TRIF se produce cuando el complejo TLR4/MD-2/LPS se endocita, formando un endosoma, lo que activa a TRIF, fosforila al factor regulador de interferón 3 (IRF3), y desencadena la síntesis del interferón β (INF- β). Esta vía también puede activar la señalización de NF κ B, pero en tiempos tardíos (Cochet & Peri, 2017; Mazgaeen & Gurung, 2020; Nova et al., 2019).

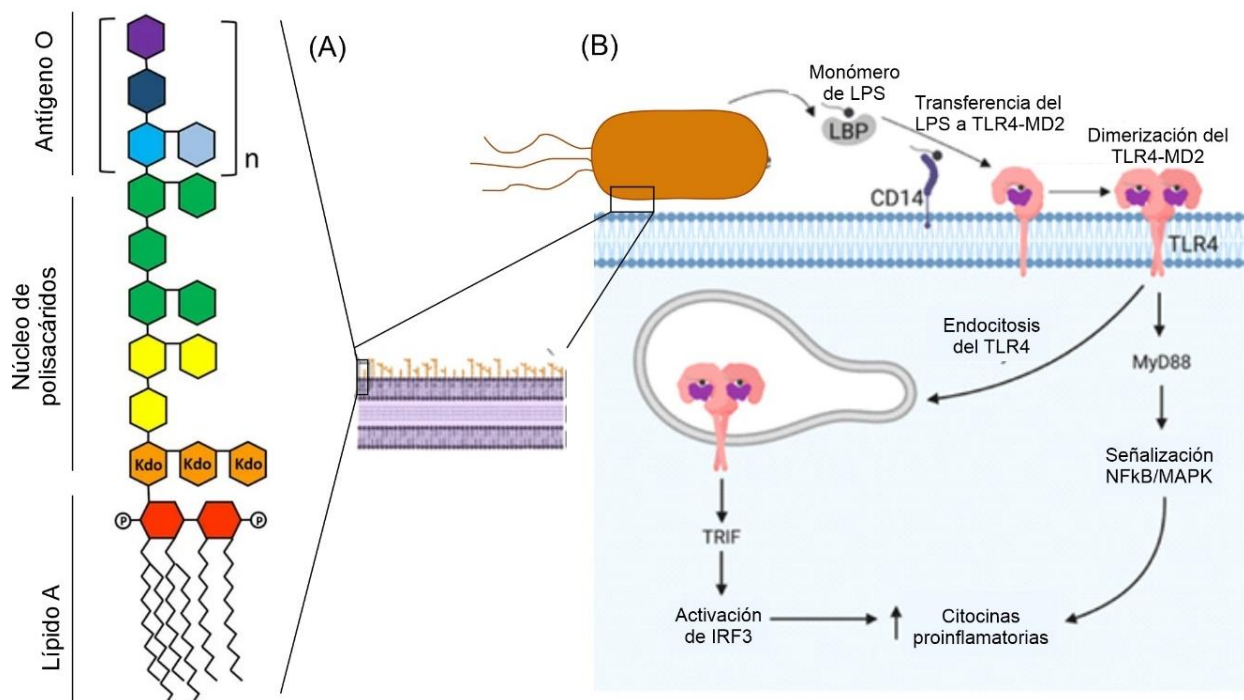


Figura 2. Estructura y señalización del LPS. (A) Localización y estructura del LPS de bacterias Gramnegativas. (B) Activación y señalización del receptor tipo Toll 4 (TLR4) por LPS en la membrana celular y endosomas. Se muestran las vías de factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88) y TRIF (Modificado de Mazgaeen & Gurung, 2020).

2.2.3 El modelo de inyección de lipopolisacáridos para el estudio de la depresión en animales

El LPS de *E. coli* se ha usado para desarrollar un modelo de depresión relacionado con la inflamación, el cual ha sido usado para evaluar los efectos de la depresión y posibles tratamientos. La administración de LPS en ratas induce síntomas clave de la depresión,

como la pérdida de peso, la anhedonia, función motora retardada, entre otras. La administración sistémica de LPS, incluso a dosis bajas, induce la producción de citocinas proinflamatorias que activan al sistema inmunológico (Maitra et al., 2012). En diferentes estudios se ha mostrado que la inyección intraperitoneal de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de LPS en un periodo de 2 semanas (7 inyecciones en total), garantiza comportamientos tipo depresivos en ratas y ratones, conduciendo a un mayor tiempo de inmovilidad y menor número de cruces entre cuadrantes en la prueba de nado forzado y campo abierto, respectivamente, menor consumo de sacarosa (Figura 3A); así como mayor producción de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF- α en el hipocampo y la corteza frontal (Figura 3B) (Bian et al., 2020; Dang et al., 2018; Jiang et al., 2017; Yang et al., 2018). En otros estudios donde se aplica una sola inyección de LPS en una concentración mayor (1 mg/kg), a los animales tratados se muestran resultados similares en los niveles de citocinas proinflamatorias y en las pruebas conductuales (Zhou et al., 2021; Ji et al., 2019).

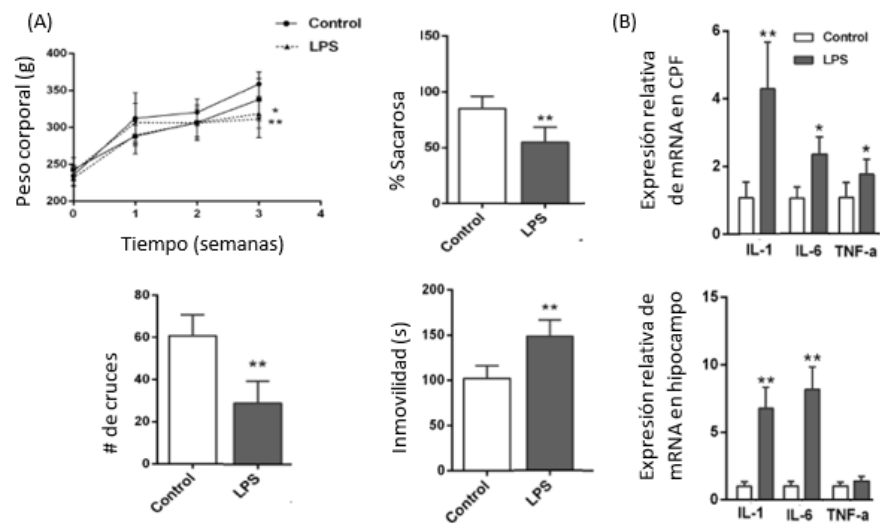


Figura 3. Efectos del LPS en ratas tratadas con LPS. (A) Cambios en el peso corporal y la conducta. (B) Niveles de expresión relativa de mRNA de citocinas proinflamatorias en corteza prefrontal e hipocampo (Modificado de Dang et al., 2018).

Los resultados de las investigaciones anteriores refuerzan la hipótesis de que los procesos proinflamatorios están relacionados con la depresión y el estrés, y son respaldados por casos clínicos en humanos. Se han reportado niveles séricos aumentados de citocinas proinflamatorias, como TNF- α , IL- β 1 e IL-6, en pacientes con

trastornos depresivos (Jia et al., 2019), y estos niveles pueden disminuir con tratamientos antidepresivos (Zou et al., 2018). Los procesos proinflamatorios en el sistema nervioso central son mediados por la microglía, que activa a NF- κ B y desencadena la producción de las citocinas proinflamatorias, teniendo como consecuencia daño neuronal que afecta las diferentes vías de señalización en diferentes regiones del encéfalo.

En la mayoría de las investigaciones que usan este modelo de depresión, una de las áreas de estudio es la corteza prefrontal (CPF) debido a su papel en la regulación emocional y el procesamiento de las respuestas emocionales (Glantz et al., 2011). En los estudios mencionados en este apartado se reportó la activación de la microglía y la liberación de citocinas proinflamatorias en la CPF, desencadenado el proceso neuroinflamatorio, que se ha relacionado con la depresión y con la alteración de la conectividad neuronal (Wohleb et al., 2016), por lo que se ha propuesto como una de las regiones clave de este trastorno.

2.3 La corteza prefrontal medial como una estructura central en la depresión

A pesar de que la depresión es un problema de salud importante a nivel mundial y se ha estudiado durante mucho tiempo, aún no se conocen sus bases con claridad. La depresión parece afectar varias regiones del cerebro, entre las cuales se encuentran la CPF, la ínsula, la amígdala, el hipocampo, el tálamo, el estriado, entre otras (Pandya et al., 2012). La corteza prefrontal tiene un papel esencial en las funciones cerebrales superiores, como la cognición, la motivación, la recompensa y las emociones (Carlén, 2017; Pandya et al., 2012), por lo que la disfunción de esta zona podría tener consecuencias importantes en estas funciones y propiciar el desarrollo de patologías. Como el desarrollo de la corteza prefrontal es muy prolongado es más susceptible a estímulos ambientales que pueden comprometer su desarrollo y correcto funcionamiento, siendo la adolescencia un periodo crítico en donde la corteza prefrontal puede ser afectada.

La corteza prefrontal se divide anatómicamente y funcionalmente en regiones dorsales, laterales y ventrales, y cada una tiene subregiones específicas. La corteza prefrontal medial (CPFm) integra información de numerosas proyecciones de entrada y hace lo

mismo a través de las proyecciones de salida hacia otras áreas corticales y subcorticales (Figura 4A). Se divide en tres regiones estructurales, la corteza cingular anterior, el área prelímbica y el área infralímbica (Figura 4B). La CPFm se ha relacionado con comportamientos emocionales (Heidbreder & Groenewegen, 2003) y ha sido propuesta como una región importante en la fisiopatología de diferentes trastornos emocionales (Bittar & Lavonté, 2021; Chen et al., 2022). Lo anterior se debe a que las subregiones que componen la CPFm (Figura 4B) muestran cambios marcados en la actividad y morfología neuronal en la depresión. La CPFm es una de las regiones que regula respuestas neuroendocrinas al estrés y que puede ser dañada por la liberación de esteroides y moléculas de señalización inflamatorias (Treadway et al., 2015). También se ha registrado una importante reducción del volumen de la corteza prefrontal, siendo considerado un marcador de la progresión de esta enfermedad (Belleau et al., 2018). Esto se relaciona con los estudios que reportan atrofia y pérdida neuronal (Duman & Monteggia, 2006; Lebedeva et al., 2018), menor número y tamaño de las dendritas y un menor número de sinapsis en esta región, tanto en humanos como en modelos animales (Drevets et al., 2008; Hains et al., 2009; Kang et al., 2012).

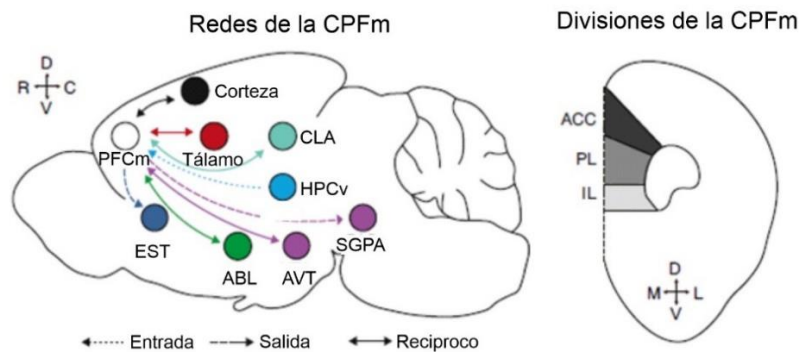


Figura 4. Corteza prefrontal medial de rata. (A) Conexiones de la corteza prefrontal medial (CPFm). EST: Estriado, ABL: Amígdala basolateral, AVT: Área ventral tegmental, SGPA: Sustancia gris Periacueductal, HPCv: Hipocampo ventral, CLA: claustrum. (B) Subregiones de la CPFm. ACC: Corteza Cingular anterior, PL: Área prelímbica, IL: Área infralímbica. D: Dorsal, V: Ventral, R: Rostral, C: Caudal. M: Medial, L: Lateral (Modificado de Anastasiades & Carter, 2021).

Diferentes experiencias del entorno y sociales pueden alterar los circuitos, la morfología neuronal y otras propiedades de la CPFm, pudiendo provocar la desregulación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, desencadenar procesos de inflamación, provocar estrés oxidativo y ocasionar alteraciones en los neurotransmisores que pueden propiciar el desarrollo de la depresión (Belleau et al., 2018; Kolb et al., 2012; Ota et al., 2014).

2.3.1 La corteza prelímbica y su papel en la regulación emocional y la depresión

Si bien las tres subregiones de la CPFm se han relacionado con la regulación emocional y específicamente con la depresión (Bittar & Labonté, 2021), el área prelímbica ha tomado especial relevancia en la investigación de esta enfermedad. Se ha reportado que esta área tiene proyecciones hacia neuronas GABAérgicas en la amígdala que participan en la atenuación de factores estresantes (Rosenkranz & Grace, 2002). Por otro lado, también se ha observado que el área prelímbica participa en la modulación de la desesperanza aprendida, que está implicada en la depresión (Pizzagalli & Roberts, 2022). Esto se observó en una investigación donde realizaron una lesión en el área prelímbica en ratas adolescentes y adultas para evaluar si el impacto de esta lesión altera la susceptibilidad a desarrollar desesperanza, y encontraron que las ratas adolescentes son más susceptibles (Uliana et al., 2020), por lo que el deterioro de la actividad del área prelímbica en la etapa de la adolescencia puede propiciar que un individuo sea más susceptible a desarrollar depresión. En otro trabajo estudiaron los cambios fisiopatológicos en neuronas glutamatérgicas y GABAérgicas del área prelímbica de ratones con conducta tipo depresiva inducida por el modelo de estrés crónico impredecible, observado que en las neuronas glutamatérgicas hubo una menor inervación presináptica GABAérgica, mientras que en las neuronas GABAérgicas hubo una disminución en la excitabilidad (Xu et al., 2016)

2.3.2 Cambios funcionales en las neuronas de la corteza prefrontal medial relacionados con la depresión

Se sabe que la depresión provoca cambios estructurales y funcionales en la CPFm que pueden afectar la comunicación neuronal, tales como retracciones dendríticas y pérdida de espinas dendríticas (Duman, 2014; Goldwater et al., 2009; Wang et al., 2014). Estas alteraciones podrían afectar a la red de interneuronas inhibitoras en la CPFm, que regulan la excitabilidad de las neuronas piramidales de las diferentes capas de esta región. Si bien, las interneuronas GABAérgicas componen el 20% de las neuronas de la CPFm, su funcionamiento correcto es importante para mantener íntegro el balance

excitación/inhibición, regidos por la actividad eléctrica y química de las neuronas, que es fundamental para el procesamiento correcto de la información.

2.3.3 Estudios electrofisiológicos en modelos animales

Los estudios electrofisiológicos en modelos animales son una herramienta relevante para estudiar las propiedades eléctricas de una neurona o de un grupo de ellas, a fin de entender mejor cómo se afecta la actividad neuronal. Los eventos eléctricos que ocurren en una célula postsináptica se pueden registrar por medio de la técnica de fijación de voltaje (patch-clamp). Uno de estos eventos es el resultado de la liberación de neurotransmisores de la terminal presináptica, que, al unirse a receptores específicos localizados en la célula postsináptica, provoca la activación de receptores ionotrópicos, permitiendo el flujo de iones. Este movimiento de iones a través de estos receptores expresados en la membrana de una célula se puede registrar como corriente eléctrica con la técnica de fijación de voltaje (Hirokawa et al., 2009). A este flujo de iones se denomina corriente postsináptica. Estas corrientes se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de sinapsis que la provocó, siendo las corrientes excitadoras (o glutamatérgicas) las que despolarizan a la célula, generalmente por la apertura de canales catiónicos, y las corrientes inhibitoras (o GABAérgicas) son las que hiperpolarizan a la célula, por la apertura de canales aniónicos.

Recientemente, el papel del balance excitación/inhibición en la CPFm ha tomado relevancia para tratar de explicar el desarrollo de conductas tipo depresivas, como consecuencia de la alteración de la transmisión sináptica excitadora o inhibitora.

2.3.4 Balance en la excitación e inhibición en la corteza prefrontal medial

El balance entre la excitación y la inhibición es un mecanismo importante en el desarrollo, el funcionamiento y la conectividad de la CPFm. Se ha propuesto que este balance puede estar comprometido en trastornos como la depresión (Caballero et al., 2021). El desbalance excitación/inhibición tiene como resultado una hiperactividad de las neuronas piramidales en la CPFm, pero no se ha llegado a una conclusión clara si esto es debido

a un incremento en la excitabilidad de las propias neuronas piramidales, o por una baja inhibición por parte de las interneuronas GABAérgicas. En cualquiera de los dos casos, la hiperactividad de las neuronas piramidales de la CPFm se ha vinculado con el desarrollo de conductas tipo depresivas (Bittar & Labonté, 2021).

En una investigación realizada por Chen et al., en 2022 se estudió el efecto de la separación materna para evaluar el balance excitación/inhibición en neuronas piramidales de la corteza prelímbica de ratas adolescentes y adultas. Encontraron que la separación materna induce conductas tipo ansiosas/depresivas en adolescentes, mientras que las ratas adultas solo presentaron conductas tipo depresivas. También observaron cambios en la frecuencia de disparo y en la concentración extracelular de glutamato, siendo mayores en las ratas adolescentes. Lo anterior es evidencia de la importancia del balance excitación/inhibición en trastornos inducidos por el modelo de separación materna. Sin embargo, hay pocos estudios que exploran el papel de la neuroinflamación en la comunicación neuronal.

Otro componente que participa en la regulación del estado de ánimo, así como en la modulación de la comunicación neuronal son los receptores de acetilcolina nicotínicos, que son proteínas que se expresan de manera amplia en todo el sistema nervioso, incluida la corteza prefrontal medial.

2.4 Receptores nicotínicos y su relación con la depresión

El sistema colinérgico tiene un papel importante en el sistema nervioso central debido a que regula varias funciones en todo el cerebro, como la cognición, la atención, la recompensa, el aprendizaje, la memoria, entre otras (Hasselmo, 2006; Poorthuis et al., 2013a). Funciona por medio de la acetilcolina para la comunicación intercelular y la transducción de señales que son llevadas a cabo por dos clases de receptores: los receptores de acetilcolina muscarínicos y los receptores de acetilcolina nicotínicos.

La activación de los receptores nicotínicos puede modular la liberación de otros neurotransmisores como el ácido γ -aminobutírico (GABA), la dopamina, el glutamato y la serotonina (Lendvai & Vizi, 2008; Marchi & Grilli, 2010). Esto se debe a que se expresan

en las terminales presinápticas (Sherafat et al., 2021) y a que son permeables al Ca^{2+} (Garduño et al., 2012; Scholze & Huck, 2020). Además, esta entrada de iones de Ca^{2+} a través de receptores nicotínicos puede actuar como una señal para iniciar sistemas de segundos mensajeros que desencadenan vías de señalización intracelulares y las funciones que realiza como canal ionotrópico (Corradi & Bouzat, 2016).

Los receptores nicotínicos tienen un papel importante en procesos como la vigilia, el sueño y la anestesia (Koukouli et al., 2017). También se ha mostrado su relación con diversos trastornos del sistema nervioso en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson, o neuropsiquiátricas como la esquizofrenia, el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, el trastorno obsesivo compulsivo, la adicción al tabaco y la depresión (Dineley et al., 2015; Wang & Lindstrom, 2018). Los receptores se expresan en regiones neuroanatómicas relacionadas con la depresión, como es el caso de la corteza prefrontal y el hipocampo (Pandya et al., 2012; Philip et al., 2010; Yin et al., 2019; Zoli et al., 2015;), por lo que podrían estar jugando un papel en esta enfermedad o estar siendo afectados. Otro motivo de relevancia es el hecho de que los receptores nicotínicos son modulados en sitios alostéricos por una amplia variedad de sustancias, incluyendo antidepresivos tricíclicos e inhibidores en la recaptura de monoaminas (Duarte et al., 2021; López et al., 2018; López-Valdés & García-Colunga et al., 2001), mostrando que la señalización colinérgica por la inhibición de los receptores nicotínicos puede estar implicada en la patología de la depresión (Je Jeon et al., 2015; Mineur & Picciotto, 2010).

También se ha propuesto que los receptores nicotínicos tienen un papel importante en la modulación de la neuroinflamación en diferentes patologías donde los procesos inflamatorios están involucrados, como la depresión, por lo que recientemente se ha estudiado la participación de la vía colinérgica antiinflamatoria. Además de participar en la transmisión de señales neuronales, los receptores nicotínicos se expresan en células inmunológicas del sistema nervioso central, como la microglía y los astrocitos. Cuando son activados en estas células inmunitarias se inhibe la liberación de citocinas proinflamatorias (IL- 1β , IL-6 y TNF α), cuyos niveles son altos en pacientes con depresión (Himmerich et al., 2019). Cuando se compromete el funcionamiento de la vía colinérgica antiinflamatoria, no se modula de manera correcta el proceso inflamatorio, mecanismo,

que propicia el desarrollo o mantenimiento de la depresión (Pomara et al., 2021), por lo que la modulación de la inflamación a través de los receptores nicotínicos es un blanco terapéutico en la patogénesis de la depresión, pero se necesitan más estudios para comprender bien su funcionamiento.

2.4.1 Receptores nicotínicos en la corteza prefrontal medial

En la corteza, las neuronas colinérgicas proyectan hacia las capas superficiales y profundas, donde se expresan de igual forma receptores nicotínicos, principalmente los subtipos $\alpha 7$ y $\alpha 4\beta 2$, que son los receptores nicotínicos más abundantes en el todo el cerebro tanto en roedores (Figura 5) como en humanos. Estos receptores se encuentran en interneuronas y en neuronas piramidales de proyección (Figura 6) mostrando un arreglo específico en el tipo neuronal y capas donde se expresan (Poorthuis & Mansvelder, 2013b), por lo que el control colinérgico del procesamiento cortical puede ser específico en cada capa cortical. Debido a las funciones de la señalización colinérgica en el sistema nervioso central, se han postulado diferentes hipótesis sobre el papel de ésta relacionado con el desarrollo de diferentes patologías (Shytle et al., 2002).

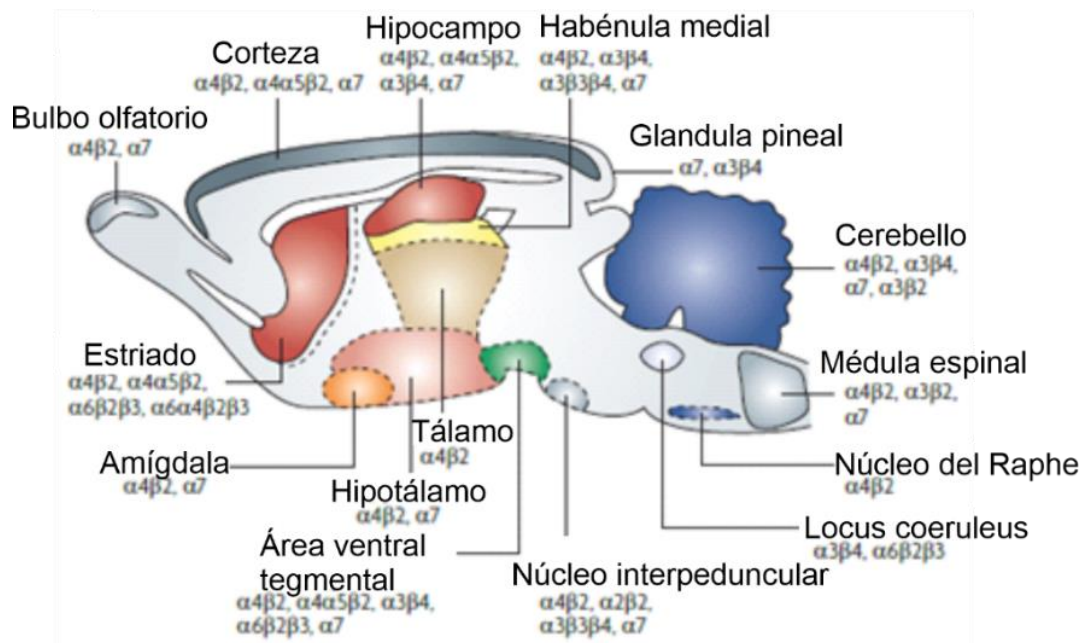


Figura 5. Subtipos de receptores nicotínicos en el cerebro de roedor. Distribución de receptores nicotínicos expresados en el sistema nervioso central de roedores (Modificado de Taly et al., 2009).

En ratones silvestres se ha mostrado que interneuronas activadas por la señalización colinérgica controlan la actividad de neuronas piramidales en las capas II/III de la corteza prelámbica por medio de los receptores nicotínicos $\alpha 7$ y $\alpha 4\beta 2$; mientras que en ratones knockout, para estos subtipos de receptores las neuronas piramidales de las capas II/III muestran una hiperactividad (Koukouli et al., 2017).

Se ha observado que la activación de receptores nicotínicos por acetilcolina en la CPFm regula el balance excitación/inhibición de los circuitos neuronales corticales al estar modulando la neurotransmisión glutamatérgica y GABAérgica (Yin et al., 2021). Esta modulación de la liberación de neurotransmisores por parte de los receptores nicotínicos necesita ser estudiada para entender su implicación en el balance excitación/inhibición en la CPFm.

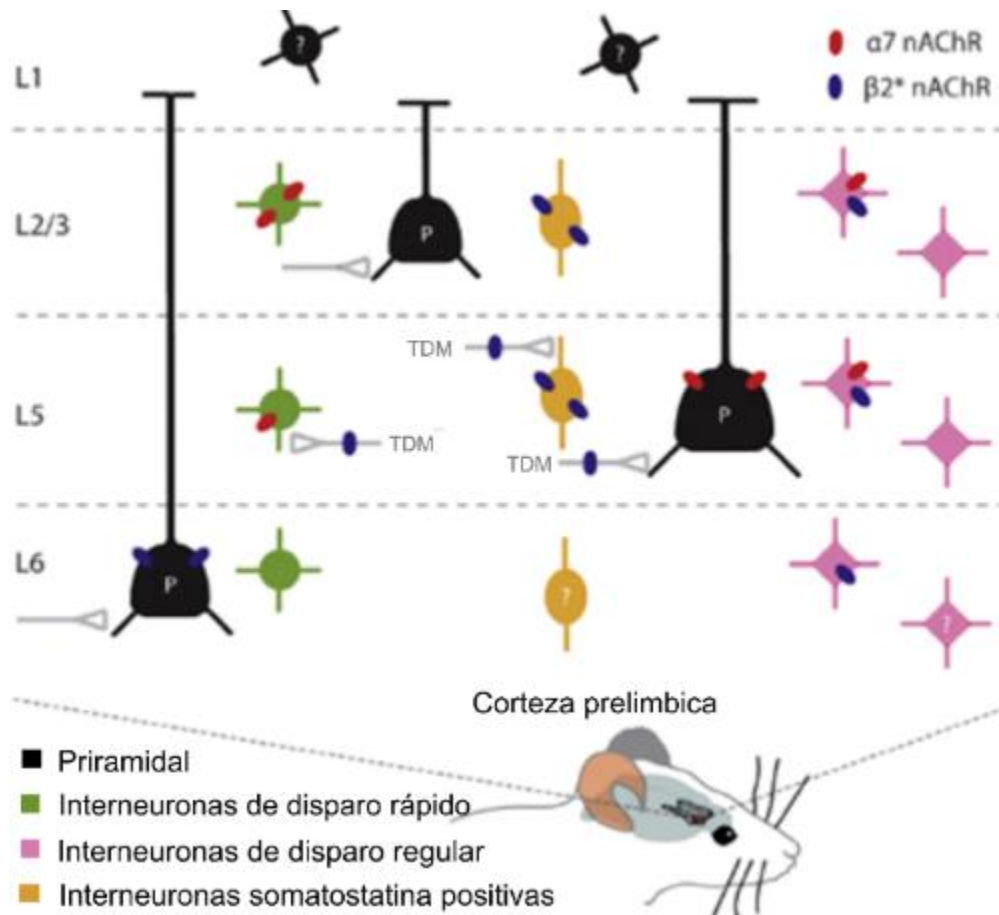


Figura 6. Capas de la CPFm y receptores nicotínicos. Las capas y los receptores nicotínicos expresados en el área prelámbica de la CPFm de roedor. L: Capa, nAChR: Receptor de acetilcolina, TDM: Tálamo Dorsal Medial, P: Piramidal (Modificado de Poorthuis & Mansvelder, 2013b).

3. Justificación

La depresión representa un problema importante de la salud mental de creciente preocupación en la sociedad actual, con una incidencia en constante aumento y consecuencias a corto y largo plazo en los adolescentes. Debido a su naturaleza heterogénea, es necesario explorar las conexiones complejas de la corteza prefrontal y algunos de los factores neurobiológicos clave, como la neuroinflamación y componentes en la comunicación neuronal (como las corrientes postsinápticas y los receptores nicotínicos) para abordar esta problemática. La interacción entre estos componentes neurobiológicos y su implicación en la depresión permitirían una mejor comprensión de los mecanismos que subyacen a esta enfermedad en el periodo de la adolescencia. En concordancia con lo anterior, en el presente estudio propusimos investigar las interacciones neurobiológicas entre la conducta tipo depresiva, las corrientes postsinápticas y los receptores nicotínicos en la corteza prefrontal medial, en un modelo de depresión relacionado con la neuroinflamación inducida por la inyección de lipopolisacáridos en ratas adolescentes.

4. Hipótesis

La inyección de lipopolisacáridos en ratas adolescentes provoca conductas tipo depresivas y afecta la modulación de las corrientes postsinápticas mediadas por receptores nicotínicos de las neuronas del área prelímbica de la corteza prefrontal medial, y si estos efectos son revertidos por imipramina.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Para explorar los mecanismos de la depresión estudiamos, en ratas adolescentes (DP 30-52) inyectadas con lipopolisacáridos, las interacciones neurobiológicas entre la conducta tipo depresiva, las corrientes postsinápticas espontáneas y la modulación de las corrientes postsinápticas inhibitoras por receptores nicotínicos ($\alpha 7$ y $\alpha 4\beta 2$) en la corteza prefrontal medial; así como los efectos de la administración del antidepresivo tricíclico imipramina en estas variables.

5.2 Objetivos particulares

- Implementar el modelo de depresión por inyección de lipopolisacáridos en ratas adolescentes y evaluar su conducta tipo depresiva.
- Estudiar los cambios en las corrientes sinápticas de las neuronas del área prelímbica de la corteza prefrontal medial en ratas adolescentes inyectadas con lipopolisacáridos.
- Evaluar las corrientes postsinápticas inhibitoras en neuronas del área prelímbica de la corteza prefrontal medial.
- Determinar la contribución de los receptores nicotínicos en la modulación de las corrientes postsinápticas inhibitoras de neuronas de la CPFm de ratas adolescentes con conducta tipo depresiva inducida por LPS.
- Determinar si los efectos antidepresivos de la imipramina modulan las corrientes postsinápticas espontáneas y así como la modulación de las corrientes postsinápticas inhibitoras por los receptores nicotínicos ($\alpha 7$ y $\alpha 4\beta 2$).

6. Materiales y Métodos

6.1 Declaración de ética

Todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo de acuerdo con la guía para el cuidado, mantenimiento y uso de animales de laboratorio, aprobado por el comité para el cuidado de los animales del Instituto de Neurobiología (INB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

6.2 Sujetos

Se usaron ratas macho de la cepa Sprague Dawley de 30 días postnatales (DP), periodo en el cual están en la etapa de adolescencia (Tirelli et al., 2003). Cada rata fue mantenida en una caja de acrílico transparente en condiciones estándar de temperatura ambiente (23°C), humedad relativa (50%) y ciclo luz/obscuridad (12/12 horas), teniendo libre acceso a agua y alimento. Todas las ratas fueron proporcionadas por el bioterio del INB.

6.3 Diseño experimental

6.3.1. Experimento uno

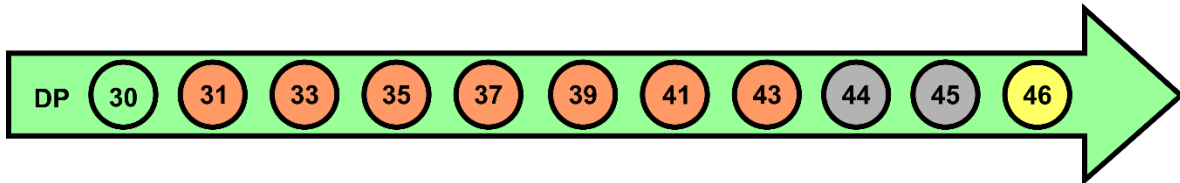
Para evaluar si la inyección de LPS induce conductas tipo depresivas y cambios electrofisiológicos en la CPFm de ratas adolescentes, los sujetos fueron divididos de manera aleatoria en dos grupos: el grupo control (VEH) y el grupo experimental (LPS). Las inyecciones comenzaron en el DP31. Veinticuatro horas después de la última inyección (DP43) se iniciaron las pruebas conductuales, la de nado forzado y la de campo abierto, estas seleccionadas como determinantes para probar el efecto depresivo del LPS. Al día siguiente de haberse terminado éstas, se realizaron los registros electrofisiológicos, que comprendieron el periodo del DP 46 al 52 (Figura 7A).

6.3.2. Experimento dos

Una vez determinado que el LPS induce conductas tipo depresivas y cambios electrofisiológicos en la CPFm de ratas adolescentes, se evaluó si el uso de la imipramina, un antidepresivo tricíclico, puede revertir o aminorar los efectos del LPS. Para ello se llevó a cabo el mismo diseño experimental anterior, pero ahora los animales se dividieron en tres grupos después de la última inyección de LPS: grupo control (VEH-

VEH), grupo LPS (LPS-VEH) y grupo imipramina (LPS-IMI), en los cuales del DP 44 al 46 se inyectó imipramina en el grupo LPS-IMI y solución salina en los grupos VEH-VEH y LPS-VEH. En el DP 45 y el DP 46 se realizaron las pruebas conductuales, en estos días la inyección de imipramina fue una hora antes de cada prueba, por lo que los registros electrofisiológicos se realizaron del periodo DP 47 al DP 52 (Figura 7B).

(A)



(B)

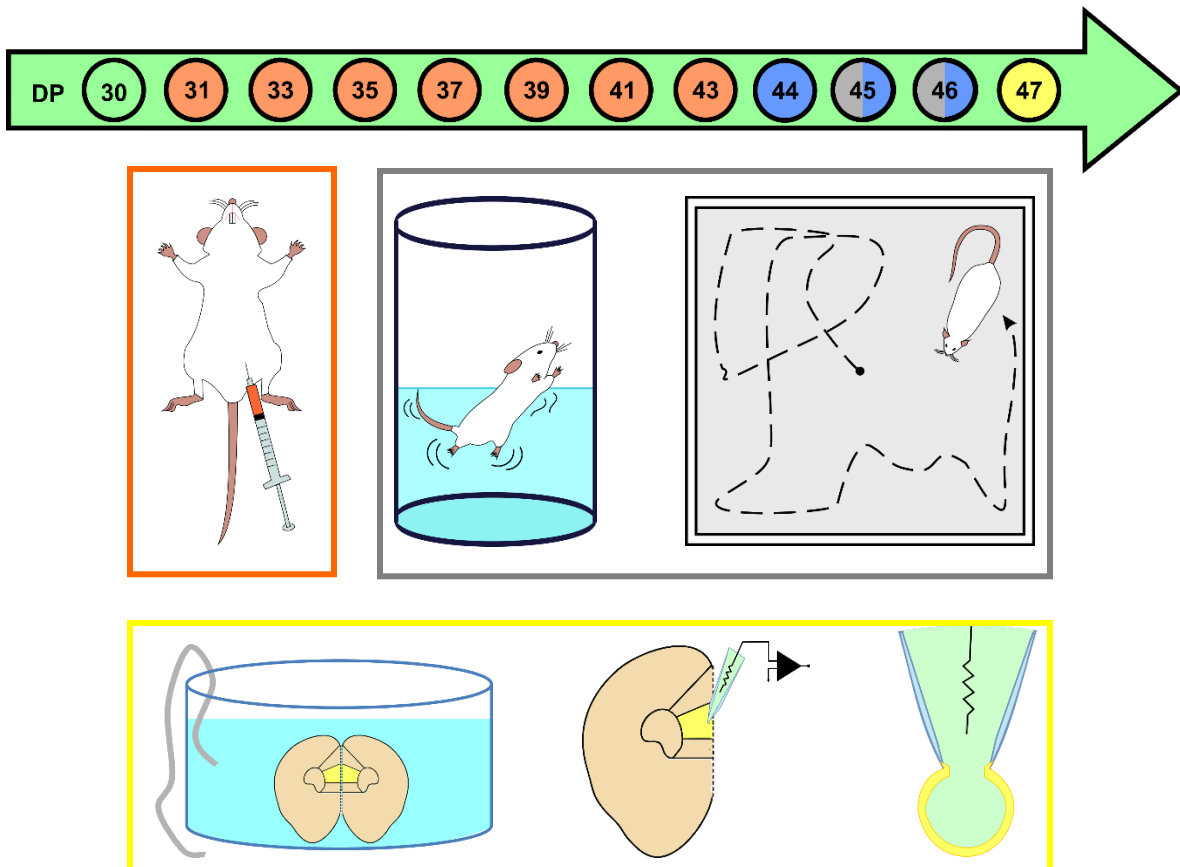


Figura 7. Diseño experimental. (A) Experimento uno y (B) Experimento dos. Los círculos y rectángulo color naranja corresponden a los días de inyección de LPS (solución salina para el grupo control), los círculos y rectángulo color gris a los días de pruebas conductuales, los círculos color azul a la inyección de imipramina (solución salina para los otros grupos) y los círculos y recuadro color amarillo a los días de registros electrofisiológicos. DP: día postnatal.

6.4 Administración de sustancias

El lipopolisacárido (LPS de *Escherichia coli*, O111:B4, L2630, Sigma) fue inyectado por vía intraperitoneal (i.p.) al grupo LPS cada dos días durante dos semanas, aplicando 7 dosis en total, la primera dosis fue al DP31 y la última al DP43. Cada dosis fue de 500 µg/kg, disueltos en solución salina (vehículo) en condiciones estériles. Las dosis se ajustaron al peso registrado el día de la inyección. El grupo control (VEH) recibió el mismo volumen de vehículo. La imipramina (I7379, Sigma) fue inyectada por vía i.p. al grupo LPS-IMI del DP 44 al 46. Cada dosis fue de 15 mg/kg, disueltos en solución salina en condiciones estériles, las dosis se ajustaron al peso registrado el día de la inyección. Los grupos VEH-VEH y LPS-VEH recibieron el mismo volumen de vehículo.

6.5 Procedimientos conductuales

Las pruebas conductuales se realizaron 24 horas después de la última inyección de LPS o 1 hora después de la segunda y tercera inyección de Imipramina. Las pruebas que se llevaron a cabo son la prueba de nado forzado y la prueba de campo abierto, comenzando con la prueba de nado forzado al DP 44 o 45 y posteriormente la prueba de campo abierto el DP 45 o 46. Ambas pruebas se realizaron en el Laboratorio de Aprendizaje (B-04) del INB, en el cuarto de actividad motora. Los sujetos fueron trasladados de forma individual desde el bioterio del laboratorio hacia una sala donde permanecieron una hora antes y una hora después de cada prueba.

6.5.1 Prueba de nado forzado

Para esta prueba se utilizó la versión clásica (Porsolt et al., 1978) para evaluar la desesperanza de los sujetos, pero solo realizando la prueba, es decir, no hubo una preprueba. La prueba se realizó 24 horas después de la última inyección de LPS para los grupos del experimento uno y 1 hora después de la segunda inyección de imipramina para los grupos del experimento dos. La prueba se realizó durante 6 minutos, pero sólo se analizaron los últimos 5 minutos. Esta prueba fue videograbada. Se utilizaron dos cilindros de 50 centímetros de alto y 20 centímetros de diámetro (Figura 8A), éstos se llenaron con agua (temperatura de ~25°C) a una altura de 17 centímetros. Lo que se

evaluó en esta prueba fue el tiempo de inmovilidad, el cual fue tomado en cuenta cuando la rata dejó de forcejar en el agua y sólo estaba flotando, o haciendo movimientos mínimos que le permitían mantenerse a flote y tener la cabeza fuera del agua. El agua de cada cilindro fue cambiada al terminar cada sesión para evitar cambios en el comportamiento de los animales.

6.5.2 Prueba de campo abierto

La prueba de campo abierto, para evaluar la actividad locomotora, se realizó 24 horas después de la prueba de nado forzado. Para esta prueba se utilizaron cajas de actividad motora (AccuScan Instruments Inc, OH, USA) de acrílico transparente (Figura 8B), cuyas dimensiones son 40x40x25 centímetros. La caja de actividad motora fue limpiada cada sesión para iniciar la siguiente. La actividad fue registrada con el programa "VersaMax" (AccuScan Instruments Inc, OH, USA), que registra la actividad de la rata a través de rayos infrarrojos en los ejes "X" y "Y". Cada rata fue colocada dentro de la caja por 5 minutos con registro de actividad cada minuto.

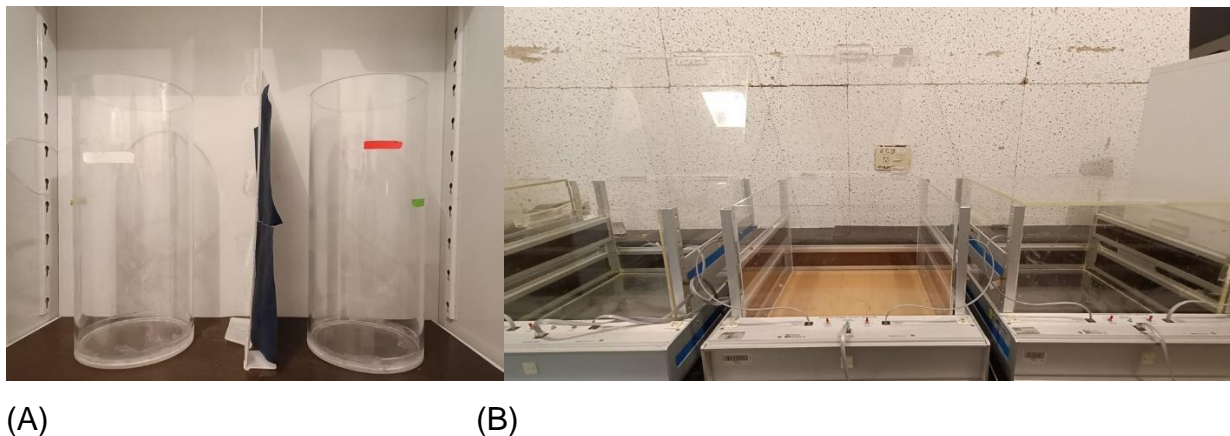


Figura 8. *Equipo usado para las pruebas conductuales.* (A) Cilindros para la prueba de nado forzado y (B) cajas de actividad motora para la prueba de campo abierto.

6.6 Rebanadas de cerebro y registro electrofisiológico

La obtención de las rebanadas de cerebro y la técnica de fijación de voltaje en configuración de célula completa se llevó a cabo al día siguiente de la prueba de campo abierto, en un periodo de 6 días, que comprende los DP 46 al 52 y que corresponde a la adolescencia tardía (McCormick & Mathews, 2010). Estos dos procedimientos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Comunicación Intercelular y Neurotransmisión (B-12) del INB.

6.6.1 Preparación de rebanadas de cerebro

Para la preparación de las rebanadas de cerebro, los animales fueron anestesiados profundamente con isoflurano y después decapitados. Se extrajeron rápidamente los cerebros y se colocaron aproximadamente durante 2 minutos en solución fría (4°C) de sacarosa que contiene (en mM): 250 sacarosa, 2.5 KCl, 1.2 NaH₂PO₄, 5 MgCl₂, 0.5 CaCl₂, 26 NaHCO₃, 10 glucosa, (pH 7.3: HCl). Posteriormente, se realizaron cortes coronales de 300 µm de espesor con un Vibratomo VT 1000 S (Leica, MO, USA), para obtener rebanadas que contenían la corteza prefrontal medial. Las rebanadas se incubaron en la solución cerebro espinal artificial (SCEA) durante 1 hora a ~32°C para mantener las rebanadas viables durante el registro electrofisiológico. Todas las soluciones se burbujearon continuamente con gas carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂) a temperatura ambiente.

6.6.2 Registro electrofisiológico con la técnica de fijación de voltaje en configuración de célula completa

Posterior a la incubación de las rebanadas, estas se transfirieron a una cámara de registro en el microscopio óptico (BX51WI, Olympus Instruments, Japón) conectado al sistema en el que se perfundió continuamente con la SCEA que contiene (en mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.23 NaH₂PO₄, 1 MgCl₂, 2 CaCl₂, 26 NaHCO₃, 10 glucosa, (pH 7.3: HCl) a una velocidad de ~3 ml/min durante todo el experimento. El registro de las corrientes sinápticas se realizó con la técnica de “patch-clamp” en modalidad de fijación de voltaje en configuración de célula completa, que se realizó con un amplificador “PC-ONE Patch/Whole Cell Clamp” (Dagan Corporation, MN, USA), utilizando el sistema de

adquisición Digidata 1440A (Axon Instruments, CA, USA) a una velocidad de muestreo de 10 KHz y filtro de 1 KHz, que fue monitoreado y almacenado en una computadora PC usando el programa “Clampex 10.2” (Molecular Devices, CA, USA).

Las micropipetas para los registros fueron hechas con tubos de vidrio de borosilicato con un estirador “flaming/brown micropipette puller P 97” (Sutter Instrument Co., CA, USA) que fueron llenadas con la solución interna de cloruro de potasio (KCl) que contiene (en mM): 140 KCl, 5 NaCl, 1 MgCl₂, 10 HEPES y 10 EGTA (pH 7.3: KOH), con una resistencia de 5-9 mΩ. Esta solución se usó para registrar corrientes postsinápticas espontáneas e inhibitoras (sPSCs e sIPSCs, respectivamente). Las sIPSCs se registraron en presencia de CNQX (10 μM) para bloquear las corrientes glutamatérgicas excitadoras debidas a los receptores AMPA/Kainato. Para la evaluación de la modulación de las corrientes sinápticas por receptores nicotínicos se agregó nicotina (10 μM) y posteriormente un antagonista de receptores nicotínicos, que fue metillicaonitina (MLA, 20 nM) o dihidro-β-eritroidina (DHβE, 0.5 μM). Se calculó el potencial de equilibrio de los iones para la solución interna y la dirección de la corriente para cada uno de estos. Las neuronas se observaron utilizando un sistema de video-microscopía en infrarrojo (BX51WI, Olympus Instruments, Japón) (Figura 9) con un objetivo de inmersión de agua de 80X. Las neuronas seleccionadas para el registro se localizaron en el área prelímbica de la CPFm, y se mantuvieron a un potencial de -70 mV.



Figura 9. Equipo para realizar los registros electrofisiológicos.

6.6.3 Adición de compuestos químicos

Se aplicaron diferentes reactivos en el baño para perfusión: cianquixalina (CNQX, 10 μ M), nicotina (Nic, 10 μ M) y dihidro- β -eritroidina (DH β E, 0.5 μ M) durante 10 minutos, para evaluar los cambios en las corrientes sinápticas por el efecto de la nicotina. Todos los compuestos fueron obtenidos de Sigma-RBI.

6.7 Análisis de datos

Para la obtención de los datos de las variables conductuales se utilizaron los programas “VersaMax” (AccuScan Instruments Inc, OH, USA) y “SuperFlex Fusion Open Field” (Omnitech, OH, USA) para analizar la actividad motora. Para la obtención de los registros electrofisiológicos se utilizaron los programas “Clampfit 10.2” (Molecular Devices, CA, USA) y “MiniAnalysis 6.0.3” (Synaptosoft Inc., NJ, USA).

Los datos del presente estudio se reportan en términos de la media y el error estándar de la media (*SEM*). Para probar si las muestras cumplían el criterio de normalidad se usó la prueba de Shapiro-Wilk. Cuando se cumplieron los supuestos de la estadística paramétrica se realizó la prueba de t-student y ANOVA de una vía, para muestras independientes en ambos casos, y la prueba de Tukey para el análisis de comparaciones múltiples cuando se usó ANOVA. En los casos donde no se cumplieron los supuestos de la estadística paramétrica se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, en esta última se usó la prueba de Dunn para el análisis *post hoc*, así como la prueba de Kolmogorov-Smirnov para la fracción acumulada de intervalo de frecuencia y amplitud de las corrientes sinápticas. El valor de significancia estadística utilizado fue de $p < 0.05$. Todas las pruebas mencionadas de análisis estadístico y sus respectivas graficas se realizaron con el programa “GraphPad Prism 8.0.1” (GraphPad Software Inc, CA, USA).

7. Resultados

7.1 Experimento uno

Este experimento se diseñó para evaluar si la inyección repetida e intermitente de LPS podía inducir conductas tipo depresivas y cambios electrofisiológicos en la CPFm de ratas adolescentes.

7.1.1 El tratamiento de LPS disminuyó la ganancia de peso corporal de ratas adolescentes

Los resultados muestran que el tratamiento con LPS tiene un efecto negativo en la ganancia de peso corporal en función de la edad de la rata. El monitoreo del peso se efectuó desde el día de llegada al bioterio (DP30) y durante el tratamiento con LPS (DP 31-43). El día de llegada al bioterio (Figura 10A) no hubo diferencias en el peso corporal de las ratas adolescentes de ambos grupos ($t_{(44)} = 1.09$, $p = 0.28$), pero en el último día de inyección (Figura 10B) las ratas del grupo LPS mostraron un peso corporal significativamente menor con respecto al grupo VEH ($t_{(44)} = 3.74$, $p < 0.001$), lo cual también se ve reflejado en la ganancia de peso total (Figura 10C), donde fue significativamente menor en el grupo LPS ($t_{(44)} = 3.42$, $p < 0.001$).

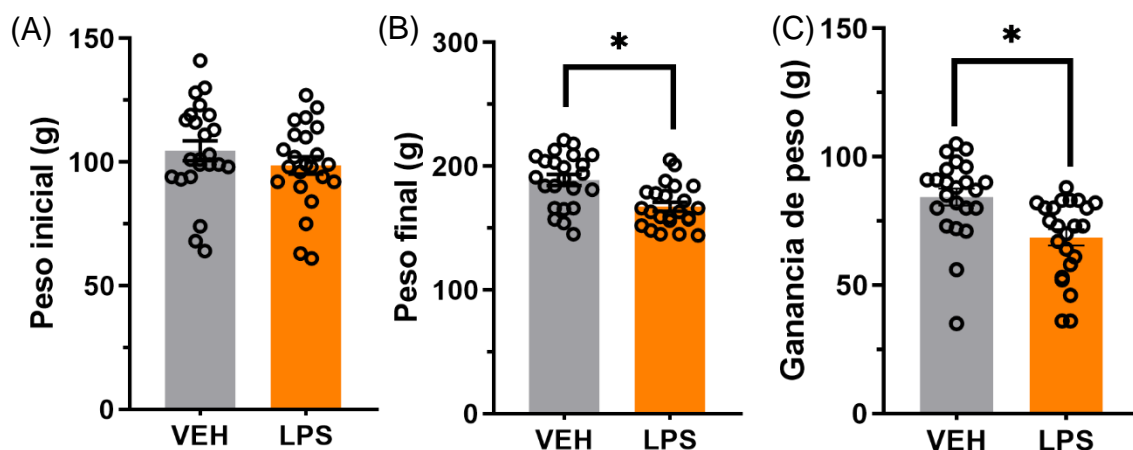


Figura 10. Efectos del LPS en el peso corporal en el experimento uno. (A) Peso del día de llegada al bioterio, (B) peso al terminó del tratamiento de LPS y (C) ganancia de peso total. Las barras representan la media \pm SEM, * $p < 0.05$, $n = 23$, ambos grupos.

7.1.2 El tratamiento de LPS promovió conductas tipo depresivas en ratas adolescentes

Una de las preguntas de investigación de este trabajo fue saber si el tratamiento con LPS provoca cambios en la conducta de ratas en la etapa adolescente. Los resultados conductuales muestran que el LPS indujo conductas tipo depresivas en ratas adolescentes. El tiempo de inmovilidad (Figura 11A) fue la variable evaluada en la prueba de nado forzado para valorar la conducta de desesperanza, y fue significativamente mayor en el grupo LPS en comparación con el grupo VEH ($t_{(44)} = 2.45$, $p = 0.0181$). En la prueba de campo abierto las variables evaluadas fueron la distancia total recorrida y la actividad vertical, estas dos variables evalúan la actividad exploratoria de los animales. En el grupo LPS tuvo una menor distancia recorrida respecto al grupo VEH (Figura 11B), siendo esta diferencia significativa ($t_{(44)} = 3.55$, $p < 0.001$), y en los episodios verticales se mantuvo esta diferencia entre los grupos ($t_{(44)} = 2.24$, $p = 0.0313$), donde el grupo LPS tuvo menos episodios verticales (Figura 11C).

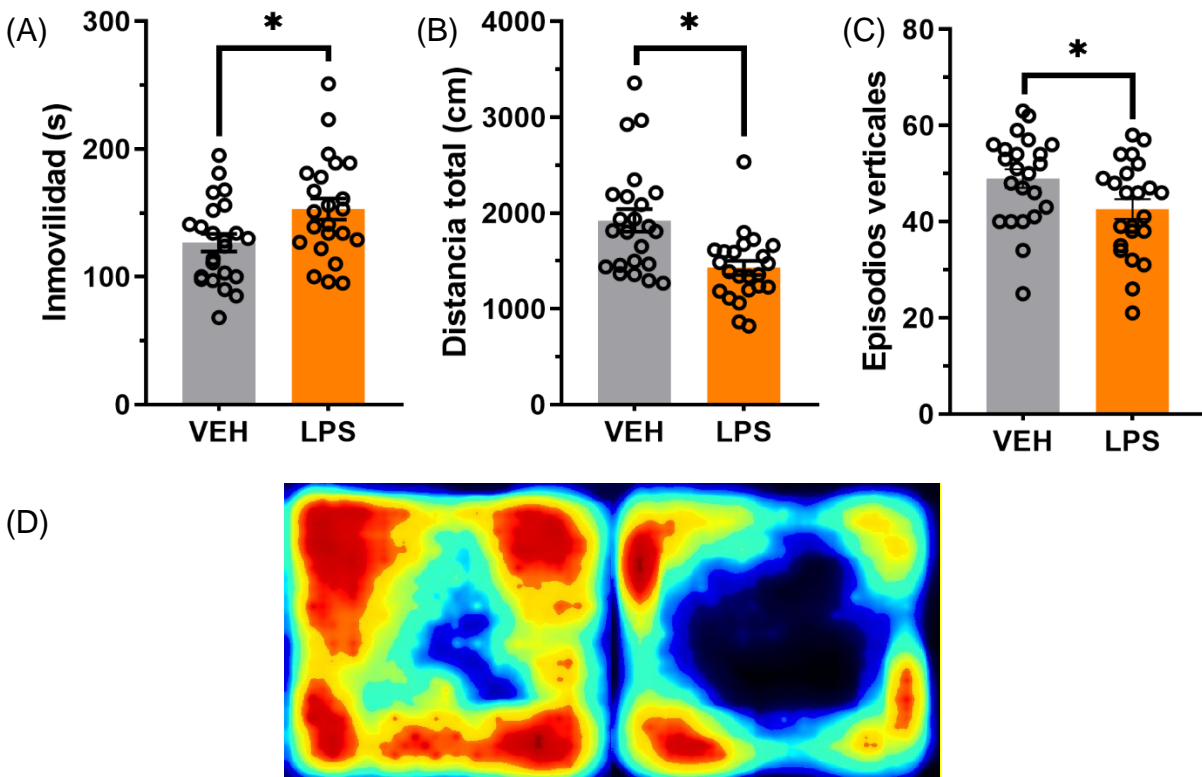


Figura 11. Efectos de la inyección de LPS en las pruebas conductuales. (A) Tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado. (B) Distancia total recorrida. (C) número de episodios verticales en la prueba de campo abierto. (D) Mapa de calor de la actividad exploratoria. Izquierda: VEH, derecha LPS. Las barras representan la media \pm SEM, $*p < 0.05$, $n = 23$, ambos grupos

7.1.3 El LPS disminuyó las corrientes postsinápticas espontáneas del área prelímbica en ratas adolescentes

Para los estudios electrofisiológicos se decidió registrar neuronas del área prelímbica de la CPFm debido a que tiene un papel importante en la regulación emocional y conductual, tiene conexiones con otras áreas relacionadas con la depresión (como el hipocampo y la amígdala), y en estudios preclínicos y clínicos se ha observado que presenta una reducción de su volumen y alteraciones en su conectividad (Hare & Duman, 2020; Pizzagalli & Roberts, 2022). Se han descrito los diferentes tipos celulares que se encuentran en la CPFm, donde el ~80% son neuronas piramidales y el ~20% son interneuronas. Las neuronas piramidales de esta región se caracterizan por presentar un patrón de disparo regular, intermitente o de ráfagas, mientras que las interneuronas tienen un patrón de disparo rápido (Kummer et al., 2020). En este trabajo no se caracterizó el tipo neuronal, pero se seleccionaron preferentemente células cuya forma fue redonda. Las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs) se registraron a un voltaje de mantenimiento de -70 mV solo en presencia de la Solución Cerebro Espinal Artificial (SCEA) y con la solución de registro de KCl, que son la solución externa e interna, respectivamente (ver “Materiales y Métodos”). En las sPSCs hubo diferencias significativas en la frecuencia acumulada y en la media de los intervalos entre eventos (IEI) de las sPSCs registradas ($D = 0.57$, $p < 0.001$; $t_{(32)} = 4.5$, $p = < 0.001$), donde el grupo LPS mostró menor frecuencia en comparación con el grupo VEH (Figura 12A). Además, la amplitud de las sPSCs (Figura 12B) también presentó diferencias significativas entre ambos grupos, pero solo en el análisis de Kolmogorov-Smirnov para las frecuencias acumuladas ($D = 0.43$, $p < 0.001$; $t_{(32)} = 1.26$, $p = 0.21$). En la Figura 12C se muestran trazos representativos de las sPSCs de ambos grupos.

SCEA

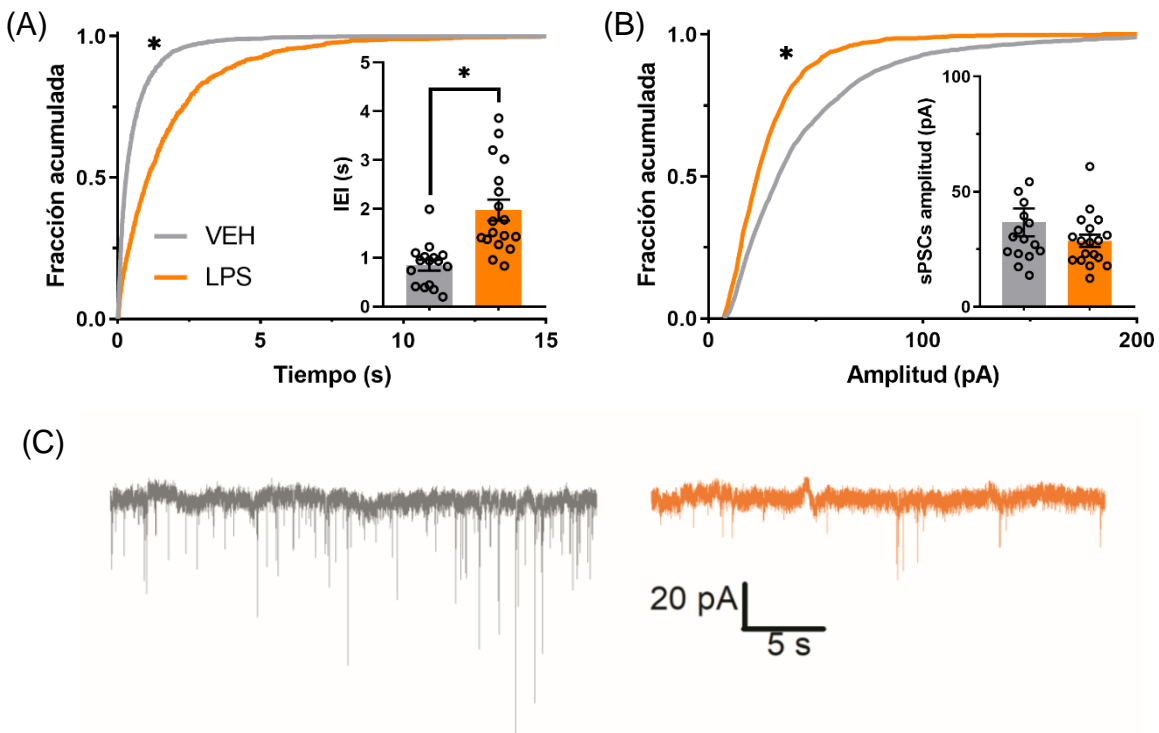


Figura 12. Efecto del LPS en las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs) registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes. (A) Frecuencia acumulada con la media de Intervalo Entre Eventos (IEI) y (B) amplitud acumulada con la media de amplitudes de las sPSCs. (C) Trazos representativos de las sPSCs registradas en neuronas del grupo VEH (trazo gris) y LPS (trazo naranja). Solución interna: KCl, $V_H = -70$ mV. Las barras representan la media \pm SEM, $*p < 0.05$, $n = 16-18$, por grupo.

7.1.4 El LPS disminuyó las corrientes postsinápticas inhibitoras de ratas adolescentes

En el siguiente paso se analizó el efecto del tratamiento con LPS en las corrientes postsinápticas inhibitoras espontáneas (sIPSCs). Para ello, se agregó al baño CNQX a una concentración de $10 \mu\text{M}$ para bloquear los canales de AMPA y Kainato que median la transmisión glutamatérgica excitadora, para así lograr el registro de corrientes postsinápticas inhibitoras espontáneas debidas a receptores de GABA. Hubo diferencias significativas en la frecuencia acumulada entre los grupos y en la mediana de los IEI ($D = 0.59$, $p < 0.001$; $U = 30$, $p = 0.0026$) (Figura 13A). También hay diferencias en la amplitud acumulada ($D = 0.56$, $p < 0.001$), pero no en la media de las amplitudes ($t_{(25)} =$

1.31, $p = 0.19$) (Figura 13B). En la Figura 13C se muestran trazos representativos de las sIPSCs de ambos grupos.

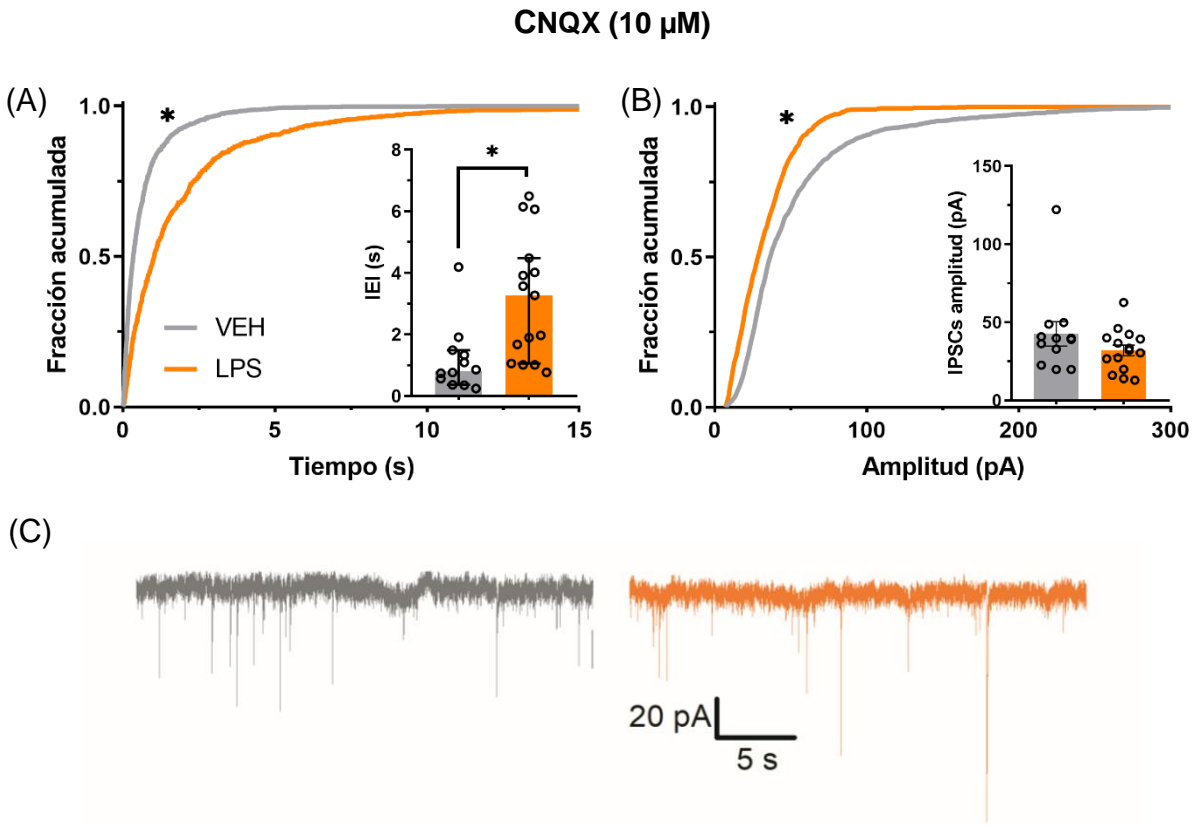


Figura 13. Efecto del LPS en las corrientes postsinápticas inhibitorias espontáneas (sIPSCs) registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes. (A) Frecuencia acumulada con la media de Intervalo Entre Eventos (IEI) y (B) amplitud acumulada con la media de amplitudes de las sIPSCs en presencia de CNQX (10 μ M). (C) Trazos representativos de las sIPSCs registradas en neuronas del grupo VEH y LPS. Las barras representan la media \pm SEM (mediana + 95% CI para inciso A), * $p < 0.05$, $n = 12-15$, por grupo.

7.1.5 El LPS afectó la modulación de las sIPSCs por receptores nicotínicos en el área prelímbica de la corteza prefrontal medial de rata adolescentes

Otra de las preguntas de este trabajo fue saber si las sIPSCs son moduladas por la activación de receptores nicotínicos en esta área. Para esto, se utilizó una concentración de 10 μ M de nicotina para estudiar sus efectos en las IPSCs en células del área prelímbica de la CPFm. Los resultados obtenidos muestran que, comparando la actividad registrada con CNQX con la actividad registrada de CNQX + nicotina del grupo VEH,

hubo un incremento en la frecuencia ($D = 0.35$, $p < 0.001$) y la amplitud ($D = 0.13$, $p < 0.001$) de las IPSCs, mientras que no hubo diferencias significativas entre la actividad de CNQX y CNQX + nicotina en el grupo de LPS. Ahora, solo en la actividad registrada con CNQX + nicotina se encontraron diferencias significativas en la frecuencia acumulada y en la mediana de las frecuencias ($D = 0.80$, $p < 0.001$, $U = 12$, $p < 0.001$) entre los grupos VEH y LPS (Figura 14A). Por otro lado, solo hubo diferencias significativas en la amplitud acumulada, pero no en la media de las amplitudes ($D = 0.41$, $p < 0.001$, $t_{(24)} = 1.13$, $p = 0.26$) (Figura 14B). Estos resultados nos confirman que el aumento de la frecuencia de las sIPSCs en el grupo VEH fue debido al efecto de la nicotina, que disminuye el intervalo entre eventos. En la Figura 14C se muestran trazos representativos de las IPSCs moduladas por receptores nicotínicos de ambos grupos. Se observa claramente cómo la frecuencia es mayor en el grupo VEH que en el grupo LPS por el efecto de la nicotina.

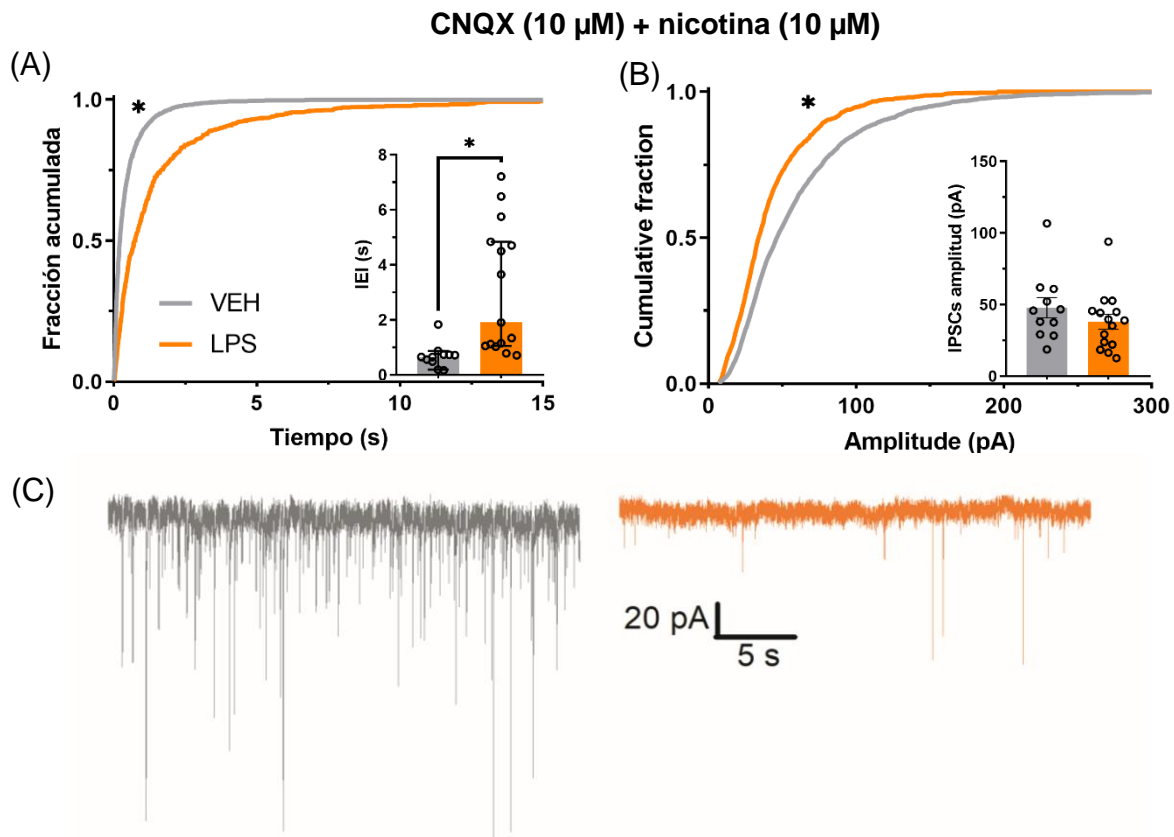


Figura 14. Efecto del LPS en la modulación de las IPSCs por nicotina en neuronas del área prefrontal de la CPFm de ratas adolescentes. (A) Frecuencia acumulada con la media de Intervalo Entre Eventos (IEI) y (B) amplitud acumulada con la media de amplitudes de las IPSCs en presencia de CNQX (10 μ M) + nicotina (10 μ M). (C) Trazos representativos de IPSCs registradas en neuronas de los diferentes grupos. Las barras representan la media \pm SEM (mediana + 95% CI para inciso A), $n = 11-15$, por grupo.

Para identificar qué subtipo de receptor nicotínico involucrado en estas respuestas, se utilizó metilcaconitina (MLA, 10 nM), un antagonista selectivo para el subtipo de receptor nicotínico $\alpha 7$. El efecto que tuvo el MLA fue una disminución en la frecuencia de las IPSCs en el grupo VEH con respecto al tiempo con CNQX y nicotina (ver Figura 14, color gris), siendo similar a la frecuencia antes de que se administrara la nicotina (ver Figura 13, color gris), mientras que en el grupo LPS el MLA no tuvo efectos *per se* sobre frecuencia y amplitud, teniendo actividad similar al de los tiempos anteriores (ver Figura 13 y 14, color naranja). Al comparar ambos grupos, se encontraron diferencias significativas ($D = 0.60$, $p < 0.001$), pero no en la media de las IEI ($t_{(12)} = 1.42$, $p = 0.18$) (Figura 15A). En cuanto a la amplitud, el análisis de la amplitud acumulada mostró diferencias significativas ($D = 0.52$, $p < 0.001$), pero en la media de las amplitudes no hubo diferencias ($t_{(11)} = 0.94$, $p = 0.36$) (Figura 15B). En la Figura 15C se muestran trazos representativos de las IPSCs con el efecto de la nicotina + MLA.

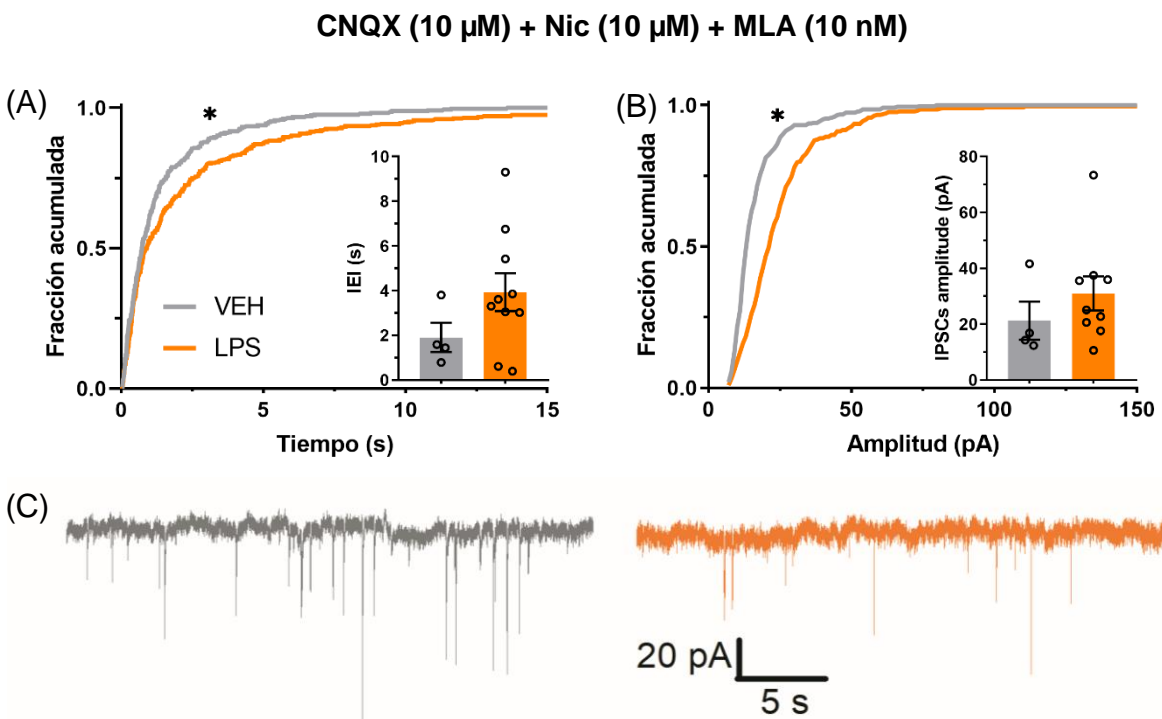


Figura 15. Efecto del MLA en las IPSCs registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm. (A) Frecuencia acumulada con la media de Intervalo Entre Eventos (IEI) y (B) amplitud acumulada con la media de amplitudes de las IPSCs en presencia de CNQX (10 μ M) + nicotina (10 μ M) + MLA (10 nM). (C) Trazos representativos de IPSCs registradas en neuronas de los diferentes grupos. Las barras representan la media \pm SEM, $n = 4-10$, por grupo.

7.2 Experimento dos

En este experimento se evaluó si la inyección de imipramina podía revertir o aminorar los efectos del tratamiento con LPS.

7.2.1 Imipramina en la ganancia de peso corporal

Se observó el mismo efecto del LPS en el peso corporal obteniendo en los resultados del experimento uno. Se monitoreó el peso de las ratas desde el día de llegada al bioterio hasta el final del tratamiento con LPS. El día de llegada al bioterio (Figura 16A) no hubo diferencias entre los grupos ($t_{(31)} = 0.82$, $p = 0.41$). Al final del tratamiento (Figura 16B) sí se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($t_{(31)} = 4.08$, $p < 0.001$). En la ganancia total de peso (Figura 16C) se observa esta misma diferencia significativa ($t_{(31)} = 3.98$, $p < 0.001$).

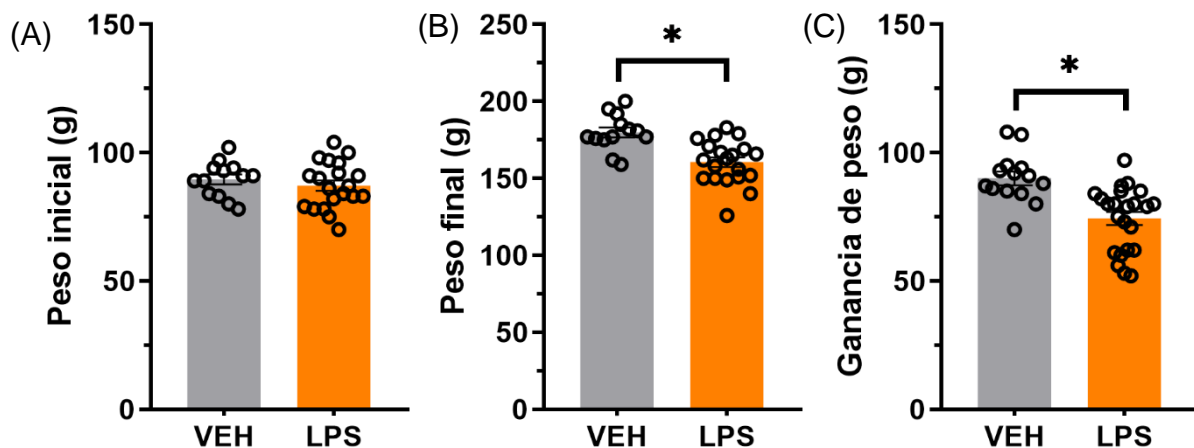


Figura 16. Efectos del LPS en el peso corporal en el experimento dos. (A) Peso del día de llegada al bioterio, (B) peso al terminó del tratamiento de LPS y (C) ganancia de peso total. Las barras representan la media \pm SEM, * $p < 0.05$, $n = 13-10$, por grupo.

Posteriormente, los sujetos recibieron una inyección de imipramina (15 mg/kg) o solución vehículo durante tres días, las dos últimas inyecciones fueron una hora antes de cada prueba conductual. El grupo VEH recibió vehículo de imipramina (VEH-VEH) y el grupo LPS se dividió aleatoriamente en dos; los que fueron inyectados con vehículo de imipramina (LPS-VEH) y lo que recibieron imipramina (LPS-IMI). Los resultados muestran

que las inyecciones de imipramina no causaron cambios en el peso en el grupo LPS-IMI con respecto al grupo LPS-VEH, y se mantuvo la diferencia significativa de ambos grupos tratados con LPS (LPS-VEH y LPS-IMI) con respecto al grupo VEH-VEH, tanto al inicio ($F_{(2, 30)} = 6.15$, $p = 0.0058$) como al final ($F_{(2, 30)} = 5.79$, $p < 0.001$) de las inyecciones de imipramina (Figura 17A y B). En la ganancia de peso no hay diferencias significativas entre los grupos (Figura 17C), siendo que esta medición se realizó en tres días seguidos y el aumento de peso ya no es tan marcado como al inicio.

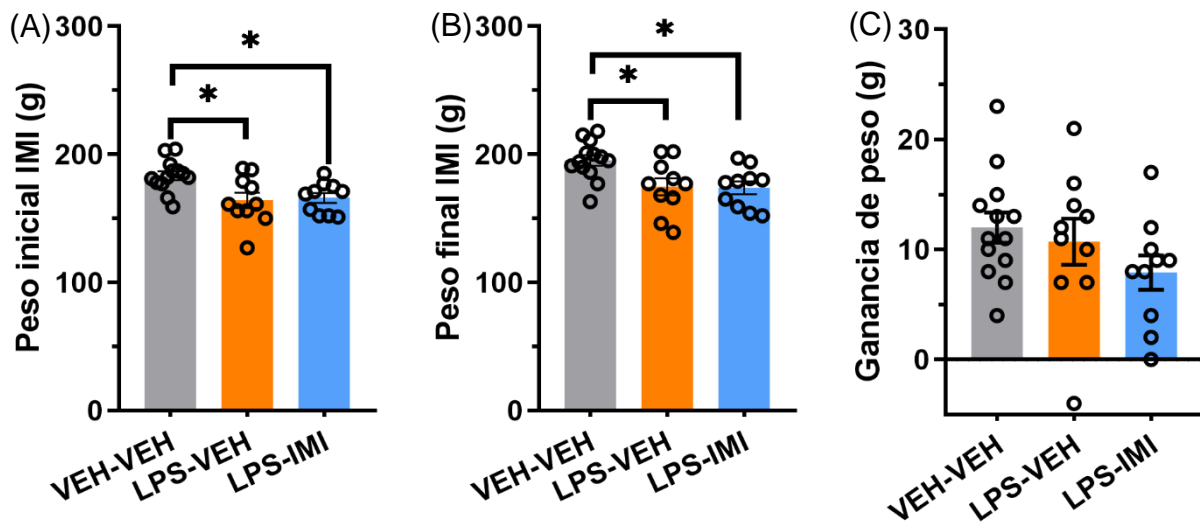


Figura 17. La inyección de imipramina no ocasiono cambios en el peso corporal de los grupos tratados con LPS. (A) Peso en el primer día de inyección. (B) Peso corporal al final de la última inyección de Imipramina. Las barras representan la media \pm SEM, * $p < 0.05$, $n = 13-10$, por grupo.

7.2.2 El tratamiento con imipramina atenuó la conducta tipo depresiva en ratas adolescentes

A pesar de que los resultados muestran que el tratamiento con imipramina no tuvo un efecto sobre el peso corporal, esta sí puede mejorar los cambios conductuales inducidos por el LPS. En el experimento dos, en la prueba de nado forzado (Figura 18A), hay diferencias en el tiempo de inmovilidad entre los grupos ($F_{(2, 30)} = 3.34$, $p = 0.049$), donde el análisis de comparaciones múltiples con la prueba de Tukey muestra que la diferencia es entre los grupos VEH-VEH y LPS-VEH, así como una tendencia en disminuir el tiempo de inmovilidad en el grupo LPS-IMI. En cuanto a la prueba de campo abierto (Figura 18B y C), también hubo diferencias significativas en la distancia recorrida entre los grupos ($F_{(2,$

$_{30} = 18.51, p < 0.001$), y el análisis *post hoc* con la prueba de Tukey indicó que hay diferencias entre el grupo LPS-IMI con los grupos VEH-VEH y LPS-VEH. Con respecto a los episodios verticales, no hubo diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 30)} = 2.89, p = 0.07$), pero se observó una tendencia de disminución de eventos en los grupos LPS-VEH y LPS-IMI.

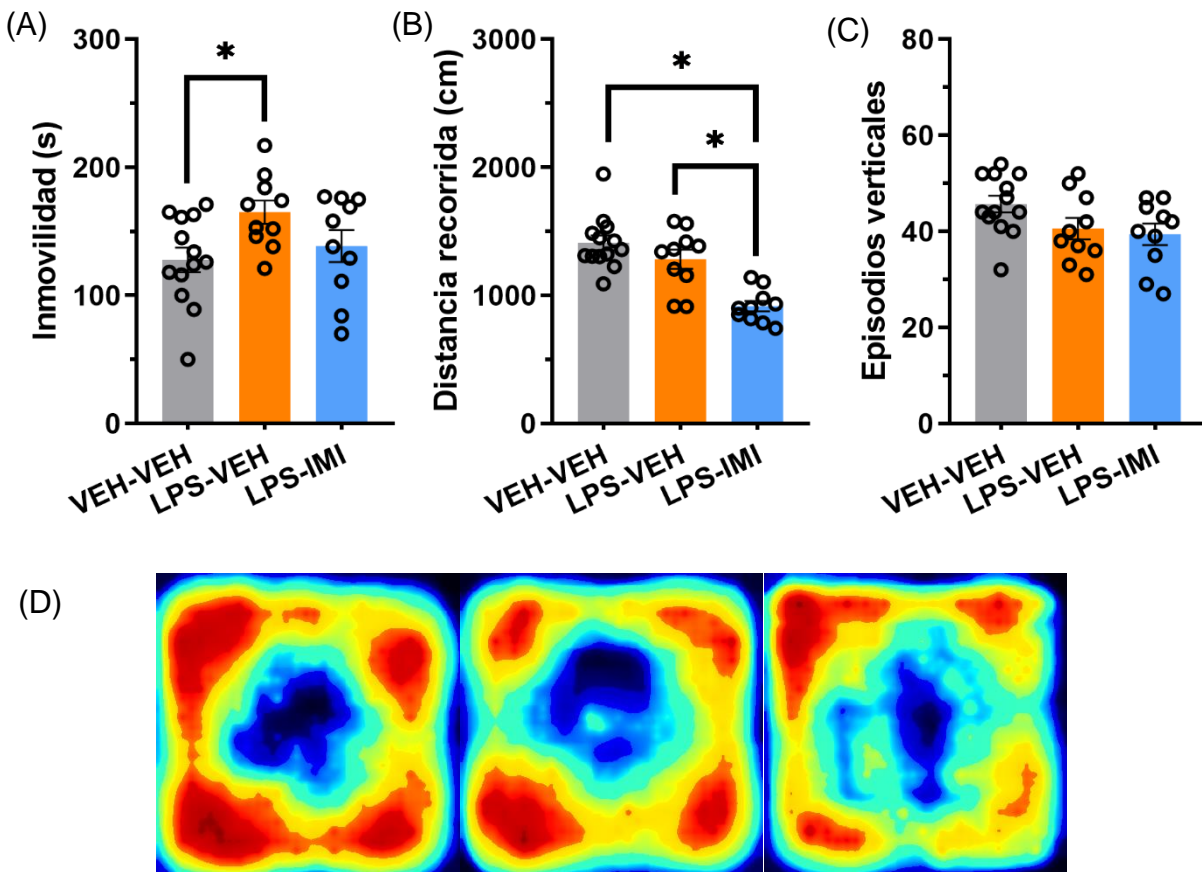


Figura 18. Efectos de la inyección de LPS e imipramina en las pruebas conductuales. (A) Tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado. (B) Distancia total recorrida. (C) Número de episodios verticales en la prueba de campo abierto. (D) Mapa de calor de la actividad exploratoria. Izquierda: VEH-VEH, centro: LPS-VEH, derecha LPS-VEH. Media \pm SEM, * $p < 0.05$, $n = 13-10$, por grupo.

7.2.3 La Imipramina revirtió los efectos promovidos por el LPS en las corrientes postsinápticas espontáneas del área prelímbica en ratas adolescentes

Continuando con lo establecido, se evaluó si la imipramina tenía algún efecto en las sPSCs. En la frecuencia acumulada se encontró que hay diferencias significativas entre los tres grupos ($D = 0.69, 0.54$ y $0.55, p < 0.0001$). En el ANOVA de una vía para la media

de los IEI también hubo diferencias significativas ($F_{(2, 26)} = 7.84, p = 0.0027$), el análisis de comparaciones múltiples con la prueba de Tukey indicó diferencias del grupos LPS-VEH con respecto a los grupos VEH-VEH y LPS-IMI. En cuanto a la amplitud acumulada también hubo diferencias entre los tres grupos en la amplitud acumulada ($D = 0.39, 0.27$ y $0.32, p < 0.001$), pero no en el promedio de las medias de las amplitudes ($F_{(2,26)} = 0.46, p = 0.63$). En la Figura 16C se muestran trazos representativos de las sPSCs de los tres grupos.

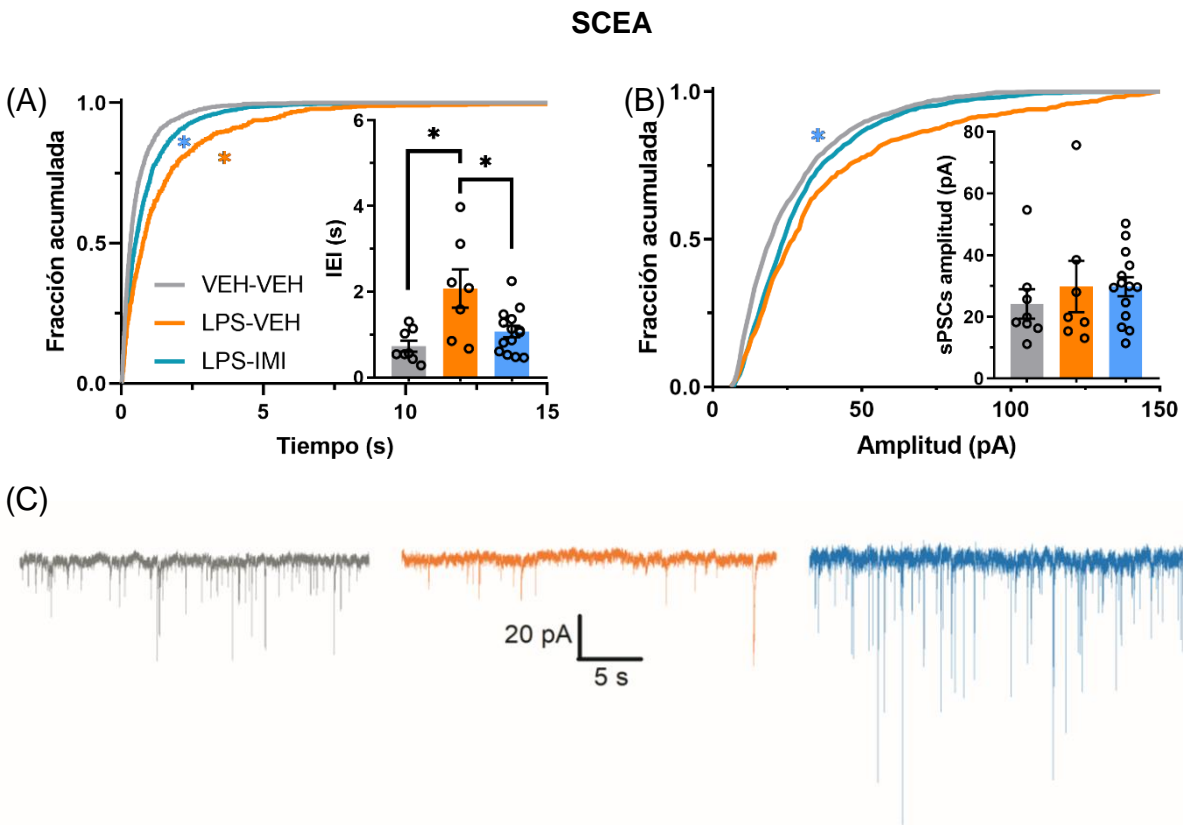


Figura 19. Efecto del LPS e imipramina en las sPSCs registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes. (A) Frecuencia acumulada de las sPSCs y media de los Intervalos entre Eventos (IEI). (B) Amplitud acumulada y media de las sPSCs. (C) Trazos representativos de las sPSCs registradas en neuronas de los tres grupos; VEH-VEH (trazo gris), LPS-VEH (trazo naranja) y LPS-IMI (trazo azul). KCl, $V_H = -70$ mV. Las barras representan la media \pm SEM, $n = 8, 7$ y 14 , cada grupo.

7.2.4 La imipramina revirtió los efectos del LPS en las corrientes postsinápticas inhibitoras espontáneas

También se evaluó si la imipramina tuvo algún efecto en las sIPSCs. Hubo diferencias entre los tres grupos en la frecuencia acumulada de las sIPSCs ($D = 0.65, 0.09$ y $0.69, p$

< 0.001) (Figura 20A), pero no hay diferencias en la media de los IEI. En cuanto a la amplitud acumulada (Figura 20B), hay diferencias de los grupos LPS-VEH y LPS-IMI con respecto al grupo VEH-VEH ($D = 0.28, 0.32, p < 0.001$), en las medias de las amplitudes se muestra una tendencia, pero no hay diferencias significativas ($F_{(2,27)} = 2.20, p = 0.13$). En la Figura 20C se muestran trazos representativos de las sIPSCs de los tres grupos.

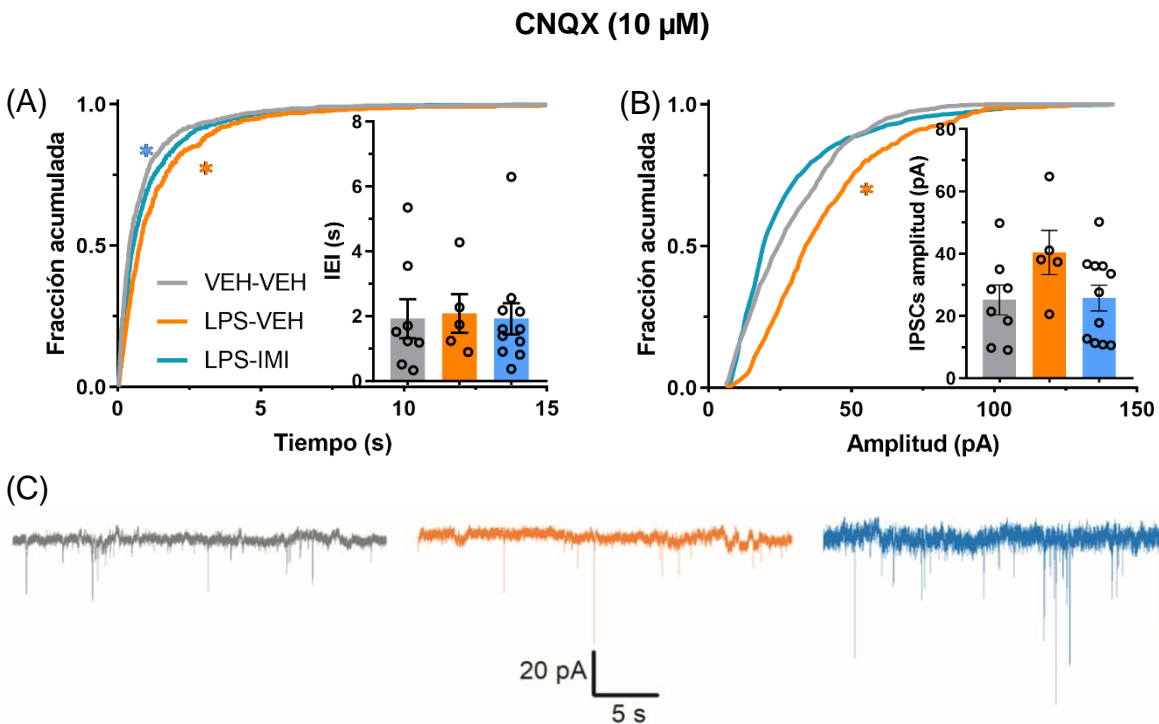


Figura 20. Efecto del LPS e imipramina en las sIPSCs registradas en neuronas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes. (A) Frecuencia acumulada con la media de Intervalo Entre Eventos (IEI) y (B) amplitud acumulada con la media de amplitudes de las sIPSCs en presencia de CNQX (10 μ M). (C) Trazos representativos de sIPSCs registradas en neuronas de los diferentes grupos. Las barras representan la media \pm SEM, $n = 8, 5$ y 11 , cada grupo.

7.2.5 La imipramina recuperó la modulación de las IPSCs por receptores nicotínicos en el área prelímbica de la CPFm

Se analizó si la imipramina afectó la modulación de las IPSCs por la activación de receptores nicotínicos. La nicotina incrementa la frecuencia de las IPSCs en el grupo VEH-VEH, y en el grupo LPS-IMI, pero el grupo LPS-VEH se mantiene constante, todo lo anterior tomando como control el tiempo solo con CNQX para cada grupo (ver Figura 20). En las frecuencias acumuladas (Figura 21A) hubo diferencias entre los tres grupos cuando se agregó la nicotina ($D = 0.61, 0.15$ y $0.65, p < 0.001$), para la media de las

frecuencias hubo diferencias significativas ($F_{(2, 16)} = 4.43$, $p = 0.029$), el análisis de comparaciones múltiples indicó diferencias entre los grupos LPS-VEH y LPS-IMI. En cuanto a la amplitud acumulada (Figura 21B), hubo diferencias significativas del grupo LPS-VEH respecto a los otros dos grupos ($D = 0.55$, 0.61 , $p < 0.0001$), pero para las medias de la amplitud no hubo diferencias ($F_{(2, 16)} = 2.4$, $p = 0.12$). En la Figura 21C se muestran trazos representativos de las IPSCs moduladas por receptores nicotínicos.

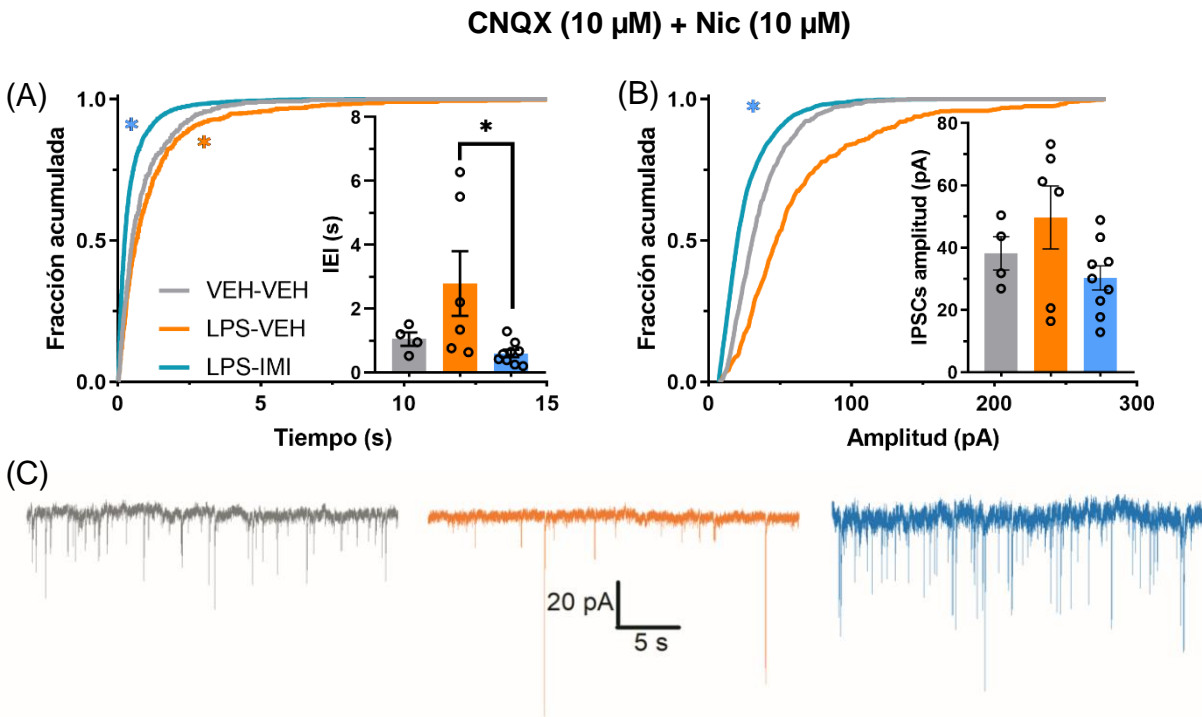


Figura 21. Efecto del LPS e imipramina en la modulación de las IPSCs por nicotina en neuronas registradas del área prelímbica de la CPFm de ratas adolescentes. (A) Frecuencia acumulada con la media de Intervalo Entre Eventos (IEI) y (B) amplitud acumulada con la media de amplitudes de las IPSCs en presencia de CNQX (10 μ M) + nicotina (10 μ M). (C) Trazos representativos de IPSCs registradas en neuronas de los diferentes grupos. Las barras representan la media \pm SEM, $n = 4$, 6 y 9, cada grupo.

En el experimento dos se utilizó un antagonista de receptores nicotínicos diferente al usado en el experimento uno, esto con la finalidad de dilucidar si en la modulación de las IPSCs de esta área participa más de un subtipo de receptor nicotínico. Se utilizó el antagonista selectivo para el subtipo de receptor $\alpha 2$, la dihidro- β -eritroidina (DH β E, 0.5 μ M). Se observó que no hubo una disminución de frecuencia ni amplitud en comparación con CNQX + nicotina en los grupos VEH-VEH y LPS-IMI (ver Figura 21, color gris y azul), mientras que el grupo LPS-VEH no presentó modulación positiva, teniendo una actividad similar al tiempo con CNQX + nicotina. El análisis mostró

diferencias significativas entre los tres grupos para las frecuencias acumuladas (Figura 22A) ($D = 0.49, 0.29$ y $0.49, p < 0.001$), pero el análisis de las medias de los intervalos no indicó diferencias entre los grupos ($F_{(2, 10)} = 0.79, p = 0.47$). Para las amplitudes (Figura 22B), el análisis de Kruskal-Wallis indica que hay diferencias significativas entre el grupo LPS-VEH con respecto a los grupos VEH-VEH y LPS-IMI ($D = 0.37, 0.38, p < 0.0001$), por otro lado el análisis de la media de las amplitudes muestra que no hay diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 10)} = 1.27, p = 0.32$). En la Figura 22C se muestran trazos representativos de las IPSCs con el efecto de la nicotina + DH β E.

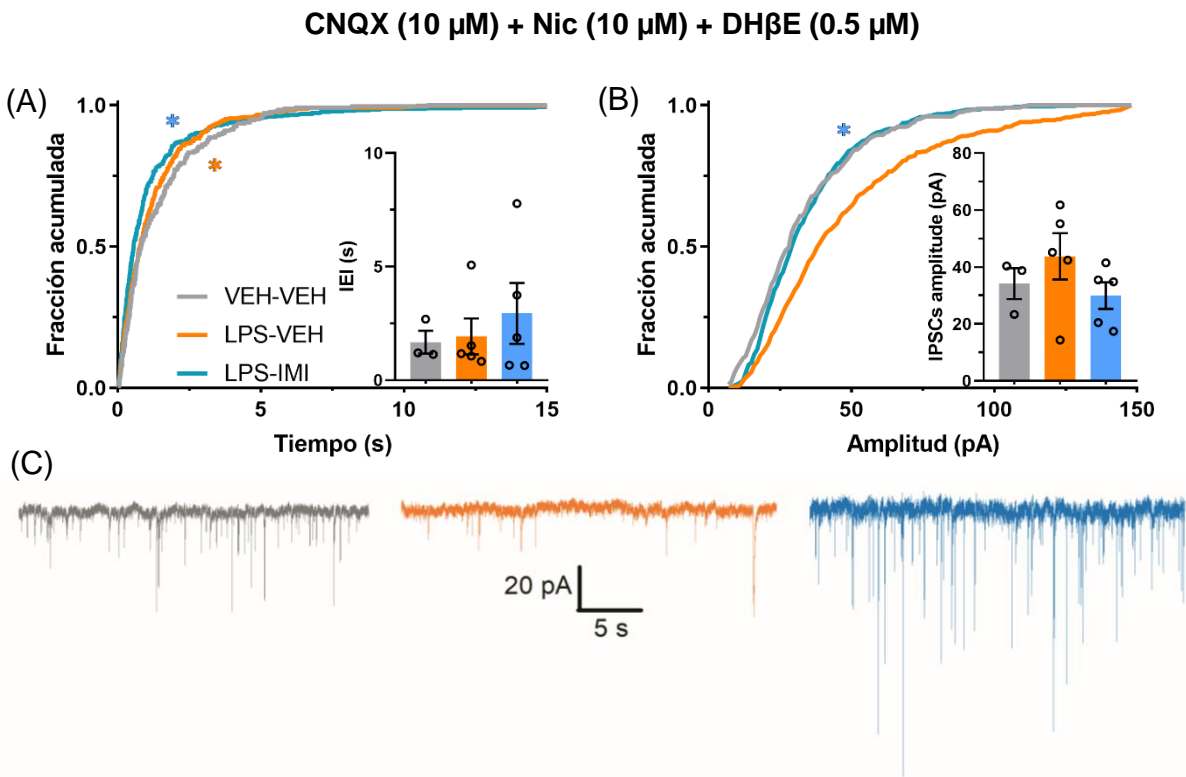


Figura 22. Efecto de la DH β E en las IPSCs registradas en neuronas del área prefrontal de la CPFm. (A) Frecuencia acumulada con la media de Intervalo Entre Eventos (IEI) y (B) amplitud acumulada con la media de amplitudes de las IPSCs en presencia de CNQX (10 μ M) + nicotina (10 μ M) + DH β E (0.5 μ M). (C) Trazos representativos de IPSCs registradas en neuronas de los diferentes grupos. Las barras representan la media \pm SEM, $n = 3, 5$ y 5 , cada grupo.

8. Discusión

Diferentes investigaciones han indicado que los estados o procesos inflamatorios pueden provocar el desarrollo o mantenimiento de diversas enfermedades, incluyendo la depresión (Kaufmann & Menard, 2018), en donde alrededor del 30% de los pacientes tienen inflamación elevada (Osimo et al., 2019). De igual forma se ha propuesto a la inflamación como un biomarcador para la depresión (Zonca, 2021), y saber si es un factor importante en la adolescencia permitiría desarrollar estrategias terapéuticas en esta etapa de desarrollo. Con lo anterior se puede decir que, aunque no en todos los casos de depresión hay inflamación y viceversa, sí hay una relación entre ambas, que se suma a la complejidad multifactorial de este trastorno. En el presente trabajo se implementó el modelo farmacológico de depresión inducido por la inyección repetida e intermitente de LPS en ratas adolescentes, que se reflejó en conductas tipo depresivas, en la disminución de las corrientes posinápticas y la falta de modulación positiva por receptores nicotínicos en la corteza prelímbica, una zona cerebral relacionada con el estado de ánimo. Además, mostramos que el tratamiento con el antidepresivo tricíclico imipramina atenuó las alteraciones inducidas por el LPS.

El modelo de inyección de LPS permite estudiar los mecanismos de la depresión, al desencadenar un desafío inmunológico en el organismo, que consiste en la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias a nivel sistémico y de manera localizada en diferentes regiones cerebrales (Planchez et al., 2019). En el presente trabajo, uno de los resultados obtenidos es que, desde la primera inyección de LPS, el peso corporal de las ratas adolescentes disminuyó y la ganancia de peso final fue significativamente menor en los grupos tratados con LPS. Este resultado es apoyado por varios estudios en roedores adultos donde inyectaron LPS y también registraron una disminución del peso corporal (Dang et al., 2018; Yang et al., 2018). Si bien en estos trabajos no se menciona a qué se debe la pérdida de peso, en otro estudio realizado por Zhong et al. (2018) investigaron los efectos del LPS en el crecimiento de ratas, encontraron que el LPS, inyectado vía intravenosa, afecta negativamente la función digestiva, por lo que después de varias dosis la ganancia de peso de las ratas se vio comprometida. Esta disminución de ganancia de peso la explican de la siguiente manera: al inyectar LPS se desencadena una respuesta inflamatoria sistémica en el organismo, esto debido a que el LPS es

reconocido por los receptores tipo toll 4 (TLR4) que expresan células inmunitarias, como macrófagos y células dendríticas (microglía y astrocitos), y la subsecuente activación de vías intracelulares involucradas en la respuesta inflamatoria, como la vía de señalización del factor nuclear kappa B (NFκB) y la vía de las MAP cinasas (MAPK), que propician la transcripción de genes y transducción de señales para la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias, como interleucina 1β (IL-1β), interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα). Estas citocinas inducen eventos o estados inflamatorios, que se ha reportado provocan una disminución en la ingesta de alimento, aumento en el gasto energético, afecta la absorción de nutrientes y aumento en la temperatura corporal (Ganeshan et al., 2019; Yang et al., 2022), lo cual explica la disminución de la ganancia de peso en los grupos tratados con LPS. Aunque en este trabajo no se evaluaron de forma cuantitativa o cualitativa las citocinas proinflamatorias, con base en la evidencia disponible, se puede sugerir que la disminución de peso se debe a las causas descritas.

Una de las preguntas de investigación de este trabajo fue saber si el LPS provoca cambios en la conducta de ratas en la etapa adolescente. La conducta tipo depresiva causada por el LPS ha sido bien documentada en roedores en la etapa adulta (Bian et al., 2020; Dang et al., 2017), siendo reconocido como un método válido para estudiar los mecanismos de la depresión. Sin embargo, ha sido poco explorado en etapas más tempranas de desarrollo, como la adolescencia. Para evaluar la conducta tipo depresiva se usó la prueba de nado forzado, que es la principal prueba utilizada para estudiar los mecanismos de la depresión en roedores, así como los posibles efectos antidepresivos de diversos fármacos (Porsolt et al., 1978). En esta prueba los grupos tratados con LPS mostraron un tiempo de inmovilidad mayor. Este resultado es apoyado por estudios previos, en donde aplicaron este mismo modelo de depresión, pero en sujetos adultos. Estudios como los de Dang et al. (2018) y Yang et al. (2018) han evaluado los efectos de LPS en la conducta tipo depresiva en ratas adultas, encontrando en ambos estudios que en la prueba de nado forzado el tiempo de inmovilidad aumenta por efecto del LPS, esta inmovilidad muestra la conducta de desesperanza y ha sido establecida como una conducta tipo depresiva en roedores, que se asemeja a lo observado en la depresión en humanos (Liao et al., 2013).

En la prueba de campo abierto los grupos inyectados con LPS presentaron una menor actividad exploratoria, pero sin comprometer directamente la locomoción, siendo este un efecto bien documentado del LPS. En diferentes trabajos donde inyectaron LPS a ratas adultas para evaluar conductas tipo depresivas, encontraron en la prueba de campo abierto que hay una disminución en la distancia recorrida, el número de cruces entre cuadrantes y número de episodios verticales (Bian et al., 2020; Yang et al., 2018). Esta disminución en la actividad exploratoria puede estar relacionada con apatía, fatiga y falta de motivación, que son efectos que se han reportado como causa del tratamiento con LPS (Bendorius et al., 2018; Muhammad et al., 2022), lo que en el presente trabajo provocó una menor exploración en el nuevo entorno al que fueron expuestos durante esta prueba. Los resultados conductuales obtenidos indican que el modelo de depresión por inyección de LPS se estableció correctamente en ratas adolescentes.

Otro de los objetivos del presente trabajo fue explorar si los efectos del LPS son atenuados o revertidos por la acción de antidepresivos en la etapa adolescente. Se seleccionó la imipramina porque a pesar de que para el tratamiento de la depresión en humanos no está aprobado su uso en adolescentes, sí se ha usado en modelos animales en esta etapa de desarrollo, obteniendo resultados favorables al atenuar las conductas tipo depresivas, además de que también se ha reportado ejercer un efecto antiinflamatorio (Kubera et al., 1995). El grupo tratado con imipramina redujo el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado, pero en la prueba de campo abierto disminuyó la actividad exploratoria. Al obtener estos resultados se podría entrar en conflicto al tener efectos opuestos en las pruebas y se podría pensar en falsos positivos o falsos negativos. Sin embargo, este efecto de la imipramina se ha observado desde los primeros artículos en los que se propuso la prueba de nado forzado como prueba crítica para evaluar la conducta de desesperanza (Porsolt et al., 1987), en donde ciertamente, la imipramina tiene efectos “contrarios” en estas dos pruebas conductuales. En un trabajo anterior se concluye que la imipramina no ejerce algún efecto en estimular la locomoción, porque de otro modo en ambas pruebas habría un incremento en la locomoción, lo cual solo fue observado en la prueba de nado forzado y no en la prueba de campo abierto, siendo que en esta última hubo una disminución en la locomoción, que en nuestro trabajo se refleja en la menor distancia recorrida y menor número de eventos verticales. Resultados

similares fueron reportados por Cordeiro et al., 2019 aplicando este mismo modelo de depresión (con una sola dosis) en ratones, pero primero inyectaron imipramina y media hora después el LPS, y observaron que la imipramina evita las conductas tipo depresivas, ya que disminuyó el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado, aumentó el número de cruces entre cuadrantes en la prueba de campo abierto y aumentó el consumo de sacarosa en la prueba de preferencia de sacarosa, lo cual se relacionó con los bajos niveles de IL-1 β en la corteza prefrontal y el hipocampo. Apoyado de lo anterior, podemos decir que en el grupo tratado con IMI, se puede apreciar que, efectivamente, hay una tendencia a revertir la conducta tipo depresiva. Sin embargo, para poder esclarecer mejor este efecto sería apropiado realizar otra prueba que nos permita reforzar este planteamiento, como la prueba de preferencia de sacarosa, que evalúa la anhedonia.

Para los estudios electrofisiológicos se decidió registrar neuronas del área prelímbica de la corteza prefrontal medial (CPFm) debido a que tiene un papel importante en la regulación emocional y conductual, tiene conexiones con otras áreas relacionadas con la depresión (como el hipocampo y la amígdala), y en estudios preclínicos y clínicos se ha observado que presenta una reducción de su volumen y alteraciones en su conectividad (Hare & Duman, 2020; Pizzagalli & Roberts, 2022). Los resultados del presente trabajo muestran que el tratamiento con LPS disminuye las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs) totales y las corrientes postsinápticas espontáneas inhibitoras (sIPSCs). Esto se ha reportado en estudios previos empleando el mismo modelo, así como con otros modelos de depresión (Yu et al., 2022), por lo que esta alteración en las corrientes postsinápticas podría ser un componente importante en la patología de la depresión. Un hallazgo similar fue descrito por Cao et al., 2021, donde indujeron inflamación en ratones (DP14) por medio de la inyección intraperitoneal de LPS, para estudiar cómo la inflamación en la vida temprana altera la activación de la microglía, lo que promueve a su vez el desarrollo de síntomas depresivos en adolescentes (DP45). En su trabajo mostraron que la inflamación provocó el engullimiento de espinas dendríticas, afectando directamente la actividad neuronal glutamatérgica, viéndose reducidas las corrientes postsinápticas excitadoras miniatura (mEPSCs) en la corteza cingular anterior (CCA), una región de la CPFm que también está relacionada con la respuesta al estrés y las emociones (Barthas et al., 2017). Tales resultados son

consistentes con nuestros resultados, ya que las sPSCs totales en el área prelímbica disminuyeron a causa del tratamiento repetido con LPS, lo que podría ser explicado por la disminución de la actividad glutamatérgica asociada a los procesos inflamatorios inducidos por el LPS. El área prelímbica está por debajo de la CCA, por lo que la disminución de las corrientes postsinápticas podría deberse también al engullimiento de las espinas dendríticas que registraron Cao et al., 2021 en la CCA, lo que es consistente con lo reportado por otros trabajos donde han mostrado que las citocinas proinflamatorias también aumentan su expresión en la CPFm. En cuanto a las sIPSCs, Jiang et al., 2022 inyectaron LPS en ratones en la adolescencia (DP 34-59), para esclarecer cómo la neuroinflamación regula la actividad sináptica en la CPFm, encontrando que hay una regulación a la alta de las corrientes postsinápticas inhibitoras miniatura (mIPSCs) registradas en el área prelímbica de la CPFm en neuronas piramidales glutamatérgicas como resultado del aumento en la activación de la microglía, pero esto no induce cambios en interneuronas GABAérgicas de la misma región. Con esta referencia podríamos sugerir que las neuronas registradas en el presente trabajo fueron posiblemente interneuronas GABAérgicas, al menos en su mayoría; en primera porque se seleccionaron neuronas que no tuvieran un soma con forma triangular y a que hay una disminución de las sIPSCs en el experimento uno, mientras que en el experimento dos se mantiene constante entre los grupos, lo que indicaría que las corrientes inhibitoras prevalecen en estas neuronas; además de que no hay una disminución marcada en la frecuencia acumulada entre el mismo grupo cuando se comparan las sPSCs y las sIPSCs dentro del mismo grupo, aunque faltaría realizar un análisis pareado para confirmar esto. Otros estudios también han abordado cómo la neuroinflamación provoca cambios en los mecanismos sinápticos de la CPFm y su relación con problemas cognitivos y conductuales. Estos trabajos reportaron que una sola dosis de LPS provoca una disminución de interneuronas (Ji et al., 2020) y un desequilibrio en la excitación/inhibición de las redes corticales (Mittli et al., 2023), que han sido asociadas con el desarrollo de conductas tipo depresivas.

En cuanto al efecto de la imipramina sobre las corrientes postsinápticas, se observó que recuperó las sPSCs, mientras que en las sIPSCs no tuvo ningún efecto. Hasta la fecha, no hay ningún reporte que haya empleado la imipramina para revertir los

efectos del LPS en las corrientes postsinápticas, por lo que nos da evidencia de que, al menos en este modelo de depresión, la imipramina está potenciando de alguna manera la transmisión glutamatérgica, ya que cuando se bloqueó ésta con CNQX los grupos mostraron una actividad similar, lo que nos indica que la imipramina estaría actuando principalmente en las corrientes postsinápticas excitadoras. Lo anterior podría dar indicios sobre el papel regulador de la imipramina en el balance excitación/inhibición en el área prelímbica de la CPFm. Este incremento en las sPSCs podría estar relacionado con los resultados conductuales, ya que la conducta depresiva inducida por el LPS fue atenuada por la imipramina, y en este caso la alteración en la frecuencia de las sPSCs podría tener un papel en el desarrollo de las conductas depresivas. En estudios previos se han reportado que la imipramina tiene un efecto antiinflamatorio al disminuir los mediadores proinflamatorios y la conducta tipo depresiva en roedores (Arshad et al., 2022; Basu-Mallik et al., 2022); además, también se ha reportado que revierte alteraciones estructurales en las espinas dendríticas de la corteza prefrontal en un modelo de depresión por estrés repetido, sugiriendo que la imipramina puede atenuar la conducta tipo depresiva por la modulación de las espinas dendríticas (Leem et al., 2020). También se ha reportado que la imipramina inyectada dos veces al día por 14 días disminuye las sIPSCs en neuronas piramidales de la corteza prefrontal (capa II/III), pero incrementa su amplitud (Wabno & Hess, 2013), lo que contrasta con los resultados aquí obtenidos, ya que tanto en la frecuencia como en amplitud de las sIPSCs no hubo cambios significativos, lo que podría indicar que las neuronas que se registraron fueron interneuronas, o que tan solo inyectar imipramina diario por tres días no tuvo un impacto sobre las sIPSCs.

Otro factor que se investigó fue determinar si los receptores nicotínicos participan en la modulación de las IPSCs de las neuronas del área prelímbica de la CPFm. Encontramos que en los grupos tratados con vehículo hubo un aumento en la frecuencia de las IPSCs cuando se agregó la nicotina, lo cual no se observó en los grupos tratados con LPS, ya que no aumentó ni la frecuencia ni la amplitud, por lo que la nicotina no tuvo un efecto *per se*. El efecto modulador positivo, tanto de IPSCs como de corrientes postsinápticas excitadoras (EPSCs) ha sido reportado en varios estudios y en diferentes regiones y tipos celulares; esto se debe a la propiedad de los receptores nicotínicos que

permiten el flujo de Ca^{2+} al interior de la célula, lo que desencadena vías intracelulares que facilitan la liberación de neurotransmisores (Albuquerque et al., 2009), modulando así la excitabilidad neuronal. En un estudio de Aracri et al., 2010 encontraron que la nicotina (5 μM) aumentó la frecuencia de IPSCs en neuronas piramidales de la capa V de la corteza prefrontal; en otro más reciente de Aracri et al., 2017, pero ahora en neuronas de disparo rápido de la capa V observaron que la nicotina (10 μM) aumentó las IPSCs, con cambios mínimos en la amplitud y la cinética. Por otro lado, Cuevas-Olguin et al., 2019 reportaron que la nicotina (300 nM) en neuronas piramidales de la capa V de la corteza prefrontal disminuyó la frecuencia de las IPSCs y corrientes postsinápticas inhibitoras evocadas (eIPSCs). Estos estudios podrían reforzar la conclusión de que las neuronas registradas en el presente trabajo no fueron neuronas piramidales, ya que los resultados se asemejan a lo observado por Aracri et al., 2017, a la vez que difieren de lo reportado por Aracri et al., 2009 y Cuevas-Olguin et al., 2019, donde registraron neuronas piramidales.

El hecho de que las IPSCs registradas de las neuronas del grupo LPS no fueran moduladas por la nicotina podría indicarnos que los receptores nicotínicos fueron alterados por el LPS, funcionalmente o a nivel de su expresión. Hasta la fecha no hay alguna investigación que haya estudiado el efecto del LPS en la modulación de las IPSCs por receptores nicotínicos. Solo se ha reportado el efecto del LPS en las corrientes postsinápticas totales, espontáneas inhibitoras o excitadoras; pero sí hay trabajos que reportan el papel de los receptores nicotínicos en este modelo farmacológico de depresión. En uno de estos estudios se observó que si la actividad del receptor nicotínico $\alpha 7$ es potenciado con PNU120596 (un modulador alostérico positivo) antes de la inyección de LPS se previene el desarrollo de la neuroinflamación y la conducta tipo depresiva, esto al reducir la producción de citocinas proinflamatorias (Alzarea & Rahman, 2019). Si bien no mencionan cómo podrían verse afectados los receptores nicotínicos, en otro trabajo reportaron que la estimulación de los TLR4 por LPS regula a la baja la expresión del receptor nicotínico $\alpha 7$ en cultivos celulares (Nakamura et al., 2020). Estos trabajos podrían indicar que los resultados que obtuvimos, específicamente en la falta de modulación de las IPSCs en los grupos tratados con LPS, se podrían deber a que la neuroinflamación disminuyó la expresión de los receptores nicotínicos en el área

prelímbrica de la CPFm, por lo que no hubo modulación positiva cuando se agregó la nicotina, pero haría falta confirmar esto con pruebas de inmunohistoquímica para determinar cualitativa o cuantitativamente una disminución en la expresión de los receptores nicotínicos.

Para dilucidar cuál es el subtipo de receptor nicotínico que participa en esta modulación de las IPSCs agregamos antagonistas selectivos, MLA y DH β E, para los subtipos α 7 (homomérico) y α 4 β 2 (heteromérico), respectivamente. Como ya se mencionó anteriormente, los receptores nicotínicos (α 7 y α 4 β 2) al ser activados participan en la modulación de las corrientes postsinápticas en diferentes regiones, incluida la corteza prefrontal (Cuevas-Olguin et al., 2019; Aracri et al., 2017). En este trabajo, cuando se agregó nicotina no hubo modulación de las IPSCs en los grupos tratados con LPS, y en consecuencia cuando se agregó MLA o DH β E no hubo ningún cambio en frecuencia ni amplitud por efecto de los antagonistas. Sin embargo, cuando se realizó lo mismo en los grupos tratados con vehículo sí hubo un incremento en la frecuencia de las IPSCs, y en los experimentos donde se agregó MLA se observó un claro efecto inhibitor sobre las IPSCs, pero en los experimentos donde se agregó DH β E no disminuyó la frecuencia, y la nicotina continuó modulando positivamente las IPSCs. Con esta delimitación farmacología podemos decir que la modulación positiva de las IPSCs en el área prelímbrica de la CPFm se debe, en mayor parte, por la activación del subtipo de receptor nicotínico α 7.

El aumento en la frecuencia de las corrientes postsinápticas inhibitoras por acción de la nicotina en las neuronas registradas tiene como resultado un incremento en la liberación de GABA por parte de las neuronas presinápticas, que están en contacto con la neurona postsináptica (célula registrada). Esto podía causar que esta última sea inhibida, y, como consecuencia, que las neuronas piramidales de esta área sean desinhibidas, propiciando que la neurotransmisión glutamatérgica sea potenciada. Lo anterior podría estar relacionado con el balance excitación/inhibición de la CPFm, que es un mecanismo que ha está relacionado con la depresión (Ghosal et al., 2017). Con lo anterior se podría sugerir que tanto la neurotransmisión GABAérgica como la expresión de receptores nicotínicos esta alterada en los sujetos tratados con LPS.

Por último, también se encontraron cambios en la modulación de las IPSCs por receptores nicotínicos en presencia de imipramina. Estudios previos han observado que la imipramina inhibe la activación de las células gliales inducida por LPS, atenuando la señalización neuroinflamatoria (Ramírez et al., 2015). En cuanto a su acción a nivel sináptico, se sabe que inhibe la recaptura de serotonina y noradrenalina, lo que podría influir en la liberación de neurotransmisores, incluyendo al GABA (Wabno & Hess, 2013). Al evaluar el efecto de la imipramina observamos que sí hubo cambios en las sPSCs y las iPSCs, asimismo ayudó a recuperar la modulación de las IPSCs por la activación de receptores nicotínicos, por lo que la atenuación de la conducta tipo depresiva podría estar relacionada con los cambios observados en las corrientes postsinápticas. Adicionalmente, cuando se probó el antagonista DH β E en el grupo tratado con LPS e imipramina no hubo una disminución en la frecuencia de las IPSCs modulada por receptores nicotínicos, por lo que muy probablemente esta acción moduladora es llevada a cabo principalmente por el subtipo α 7. Este resultado nos indicaría que el LPS no solo afecta a los receptores α 7 expresados en las células gliales del área prelímbica de la CPFm, sino que también a los receptores α 7 de las neuronas de esta región (Figura 23).

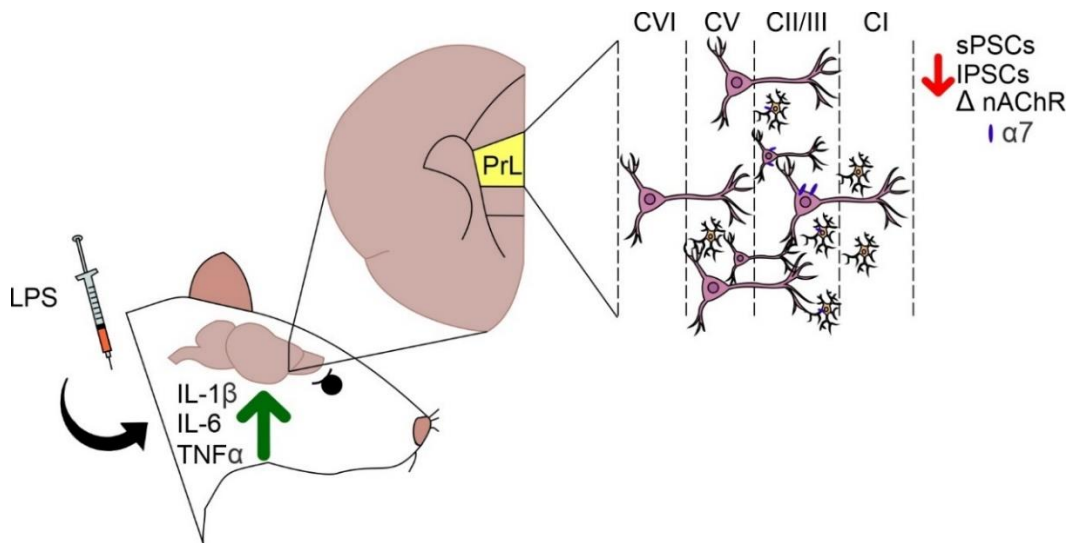


Figura 23. Esquema que resume las alteraciones provocadas por el modelo de LPS. La inyección repetida e intermitente propicia el desarrollo de conductas tipo depresivas, donde está implicada la liberación de citocinas proinflamatorias que causa el desarrollo de la neuroinflamación, afectado áreas cerebrales involucradas en la regulación del estado de ánimo y las emociones, como la CPFm-PrL. Esto provoca que haya alteraciones en las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs) e inhibitoras (IPSCs), donde participan, principalmente, los neurotransmisores glutamato y GABA (este último solo en las IPSCs), por lo que se compromete el balance entre la excitación y la inhibición en esta área. Además, los receptores nicotínicos (nAChRs) también se ven afectados, específicamente el subtipo α 7. C: Capa, PrL: Prelímbica. IL: Interleucina. TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

9. Conclusión

En resumen, el presente trabajo mostró que el tratamiento con lipopolisacáridos produce una disminución del peso corporal, e induce conductas tipo depresivas en ratas adolescentes. Lo anterior podría estar relacionado con los cambios electrofisiológicos registrados en neuronas del área prelímbica de la corteza prefrontal medial, donde se ven afectadas las corrientes sinápticas espontáneas, las corrientes sinápticas inhibitoras y la modulación por receptores nicotínicos. Este trabajo explora la participación de los receptores nicotínicos en las conductas tipos depresivas, encontrando que su funcionamiento o expresión está disminuida en los grupos tratados con LPS, donde no hubo modulación positiva de las corrientes postsinápticas inhibitoras, en comparación con los grupos control y el grupo tratado con imipramina donde sí hubo. Como consecuencia de la modulación positiva, aumenta la liberación de GABA en las neuronas presinápticas, por lo que estarían inhibiendo a las neuronas registradas (postsinápticas), lo que tendría como consecuencia una posible desinhibición de las neuronas piramidales de esta área. Por último, la modulación positiva se debe, principalmente, al subtipo de receptor nicotínico $\alpha 7$, ya que la modulación positiva fue inhibida por MLA y no por DH β E. Falta por esclarecer si los receptores nicotínicos son afectados en su función o en su expresión.

10. Perspectivas

Los hallazgos reportados en este trabajo validan el modelo de depresión por inyección de LPS en la etapa adolescente, lo que sugiere que la neuroinflamación podría ser un factor que participa en la depresión en esta etapa de desarrollo. Con la inducción de conductas tipo depresivas, las alteraciones en las corrientes postsinápticas y el cambio en la modulación de estas por receptores nicotínicos expone la necesidad de investigar los mecanismos neurobiológicos subyacentes a estas respuestas. Se podría profundizar en cómo la inflamación afecta a nivel molecular y celular la neurotransmisión en el cerebro de en la etapa adolescente y examinar la influencia de los receptores nicotínicos en estos procesos. También explorar esto en roedores hembra, ya que es el género que presenta una mayor susceptibilidad a la depresión. Con lo anterior se podría contribuir a una mejor comprensión de los procesos neurobiológicos involucrados en la depresión en la adolescencia y potencialmente identificar objetivos terapéuticos en el futuro.

11. Referencias

- Albert, P. R., Vahid-Ansari, F., & Luckhart, C. (2014). Serotonin-prefrontal cortical circuitry in anxiety and depression phenotypes: pivotal role of pre-and post-synaptic 5-HT1A receptor expression. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8, 199.
- Albuquerque, E. X., Pereira, E. F., Alkondon, M., & Rogers, S. W. (2009). Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiological reviews*, 89(1), 73–120.
- Anastasiades, P. G., & Carter, A. G. (2021). Circuit organization of the rodent medial prefrontal cortex. *Trends in Neurosciences*, 44(7), 550-563.
- APA, American Psychiatric Association. (2022). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (Fifth Edition) Text Revision. *American Psychiatric Publishing*.
- Aracri, P., Consonni, S., Morini, R., Perrella, M., Rodighiero, S., Amadeo, A., & Becchetti, A. (2010). Tonic modulation of GABA release by nicotinic acetylcholine receptors in layer V of the murine prefrontal cortex. *Cerebral cortex*, 20(7), 1539–1555.
- Aracri, P., Meneghini, S., Coatti, A., Amadeo, A., & Becchetti, A. (2017). $\alpha 4\beta 2^*$ nicotinic receptors stimulate GABA release onto fast-spiking cells in layer V of mouse prefrontal (Fr2) cortex. *Neuroscience*, 340, 48–61.
- Arshad, H. M., Ahmad, F. U. D., & Lodhi, A. H. (2022). Methanolic extract of *Aerva javanica* leaves prevents LPS-induced depressive like behavior in experimental mice. *Drug Design, Development and Therapy*, 4179-4204.
- Barthas, F., Humo, M., Gilsbach, R., Waltisperger, E., Karatas, M., Leman, S., Hein, L., Belzung, C., Boutillier, A. L., Barrot, M., & Yalcin, I. (2017). Cingulate Overexpression of Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase-1 as a Key Factor for Depression. *Biological psychiatry*, 82(5), 370–379.
- Bao, A. M., Meynen, G., & Swaab, D. F. (2008). The stress system in depression and neurodegeneration: focus on the human hypothalamus. *Brain research reviews*, 57(2), 531-553.

- Basu-Mallik, S., Mudgal, J., Hall, S., Kinra, M., Grant, G. D., Nampoothiri, M., Anoopkumar-Dukie, S., & Arora, D. (2022). Remedial effects of caffeine against depressive-like behaviour in mice by modulation of neuroinflammation and BDNF. *Nutritional neuroscience*, 25(9), 1836–1844.
- Beames, J. R., Kikas, K., & Werner-Seidler, A. (2021). Prevention and early intervention of depression in young people: an integrated narrative review of affective awareness and Ecological Momentary Assessment. *BMC psychology*, 9(1), 113.
- Belleau, E. L., Treadway, M. T., & Pizzagalli, D. A. (2018). The impact of stress and major depressive disorder on hippocampal and medial prefrontal cortex morphology. *Biological psychiatry*, 85(6), 443-453.
- Bendorius, M., Po, C., Muller, S., & Jeltsch-David, H. (2018). From systemic inflammation to neuroinflammation: the case of neurolupus. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3588.
- Bian, H. T., Wang, G. H., Huang, J. J., Liang, L., Xiao, L., & Wang, H. L. (2020). Scutellarin protects against lipopolysaccharide-induced behavioral deficits by inhibiting neuroinflammation and microglia activation in rats. *International Immunopharmacology*, 88, 106943.
- Bittar, T. P., & Labonté, B. (2021). Functional Contribution of the Medial Prefrontal Circuitry in Major Depressive Disorder and Stress-Induced Depressive-Like Behaviors. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 15, 699592.
- Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann B. C. eds (2018). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics* (13th ed.). McGraw-Hill Education.
- Cao, P., Chen, C., Liu, A., Shan, Q., Zhu, X., Jia, C., Peng, X., Zhang, M., Farzinpour, Z., Zhou, W., Wang, H., Zhou, J. N., Song, X., Wang, L., Tao, W., Zheng, C., Zhang, Y., Ding, Y. Q., Jin, Y., Xu, L., ... Zhang, Z. (2021). Early-life inflammation promotes depressive symptoms in adolescence via microglial engulfment of dendritic spines. *Neuron*, 109(16), 2573–2589.e9.
- Carlén, M. (2017). What constitutes the prefrontal cortex?. *Science*, 358(6362), 478-482.

- Carrellas, N. W., Biederman, J., & Uchida, M. (2017). How prevalent and morbid are subthreshold manifestations of major depression in adolescents? A literature review. *Journal of Affective Disorders*, 210, 166-173.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020). Data and statistics on children's mental health. Retrieved June, 15, 2020.
- Chen, Y., Zheng, Y., Yan, J., Zhu, C., Zeng, X., Zheng, S., Li, W., Yao, L., Xia, Y., Su, W. W., & Chen, Y. (2022). Early Life Stress Induces Different Behaviors in Adolescence and Adulthood May Related With Abnormal Medial Prefrontal Cortex Excitation/Inhibition Balance. *Frontiers in neuroscience*, 15, 720286.
- Cochet, F., & Peri, F. (2017). The role of carbohydrates in the lipopolysaccharide (LPS)/toll-like receptor 4 (TLR4) signalling. *International journal of molecular sciences*, 18(11), 2318.
- Cordeiro, R. C., Chaves Filho, A. J. M., Gomes, N. S., Tomaz, V. S., Medeiros, C. D., Queiroz, A. I. G., Maes, M., Macedo, D. S., & Carvalho, A. F. (2019). Leptin Prevents Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behaviors in Mice: Involvement of Dopamine Receptors. *Frontiers in psychiatry*, 10, 125.
- Corradi, J., & Bouzat, C. (2016). Understanding the bases of function and modulation of $\alpha 7$ nicotinic receptors: implications for drug discovery. *Molecular pharmacology*, 90(3), 288-299.
- Cuijpers, P., Berking, M., Andersson, G., Quigley, L., Kleiboer, A., & Dobson, K. S. (2013). A meta-analysis of cognitive-behavioural therapy for adult depression, alone and in comparison with other treatments. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 58(7), 376-385.
- Cuevas-Olguin, R., Esquivel-Rendon, E., Vargas-Mireles, J., Barajas-López, C., Salgado-Delgado, R., Saderi, N., Arias, H. R., Atzori, M., & Miranda-Morales, M. (2020). Nicotine smoking concentrations modulate GABAergic synaptic transmission in murine medial prefrontal cortex by activation of $\alpha 7^*$ and $\beta 2^*$ nicotinic receptors. *The European journal of neuroscience*, 51(3), 781–792.

- Dang, R., Zhou, X., Tang, M., Xu, P., Gong, X., Liu, Y., Jiao, H., & Jiang, P. (2018). Fish oil supplementation attenuates neuroinflammation and alleviates depressive-like behavior in rats submitted to repeated lipopolysaccharide. *European journal of nutrition*, 57(3), 893–906.
- Duarte, Y., Rojas, M., Canan, J., Pérez, E. G., González-Nilo, F., & García-Colunga, J. (2021). Different Classes of Antidepressants Inhibit the Rat $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor by Interacting within the Ion Channel: A Functional and Structural Study. *Molecules*, 26(4), 998.
- Dineley, K. T., Pandya, A. A., & Yakel, J. L. (2015). Nicotinic ACh receptors as therapeutic targets in CNS disorders. *Trends in pharmacological sciences*, 36(2), 96-108.
- Drevets, W. C., Price, J. L., & Furey, M. L. (2008). Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain structure and function*, 213(1-2), 93-118.
- Drevets, W. C., Zarate Jr, C. A., & Furey, M. L. (2013). Antidepressant effects of the muscarinic cholinergic receptor antagonist scopolamine: a review. *Biological psychiatry*, 73(12), 1156-1163.
- Drzewiecki, C. M., & Juraska, J. M. (2020). The structural reorganization of the prefrontal cortex during adolescence as a framework for vulnerability to the environment. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 199, 173044.
- Duman, R. S. (2014). Pathophysiology of depression and innovative treatments: remodeling glutamatergic synaptic connections. *Dialogues in clinical neuroscience*, 16(1), 11.
- Duman, R. S., & Monteggia, L. M. (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biological psychiatry*, 59(12), 1116-1127.
- Furtado, M., & Katzman, M. A. (2015). Examining the role of neuroinflammation in major depression. *Psychiatry research*, 229(1-2), 27-36.
- Garduño, J., Galindo-Charles, L., Jiménez-Rodríguez, J., Galarraga, E., Tapia, D., Mihailescu, S., & Hernandez-Lopez, S. (2012). Presynaptic $\alpha 4\beta 2$ nicotinic

acetylcholine receptors increase glutamate release and serotonin neuron excitability in the dorsal raphe nucleus. *Journal of Neuroscience*, 32(43), 15148-15157.

Ganeshan, K., Nikkanen, J., Man, K., Leong, Y. A., Sogawa, Y., Maschek, J. A., Van Ry, T., Chagwedera, D. N., Cox, J. E., & Chawla, A. (2019). Energetic Trade-Offs and Hypometabolic States Promote Disease Tolerance. *Cell*, 177(2), 399–413.

Ghosal, S., Hare, B. D., & Duman, R. S. (2017). Prefrontal cortex GABAergic deficits and circuit dysfunction in the pathophysiology and treatment of chronic stress and depression. *Current opinion in behavioral sciences*, 14, 1-8.

Gillman, P. K. (2007). Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *British journal of pharmacology*, 151(6), 737-748.

Glotzbach, E., Mühlberger, A., Gschwendtner, K., Fallgatter, A. J., Pauli, P., & Herrmann, M. J. (2011). Prefrontal Brain Activation During Emotional Processing: A Functional Near Infrared Spectroscopy Study (fNIRS). *The open neuroimaging journal*, 5, 33–39.

Goldberg, J. S., Bell Jr, C. E., & Pollard, D. A. (2014). Revisiting the monoamine hypothesis of depression: a new perspective. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, PMC-S11375.

Goldwater, D. S., Pavlides, C., Hunter, R. G., Bloss, E. B., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2009). Structural and functional alterations to rat medial prefrontal cortex following chronic restraint stress and recovery. *Neuroscience*, 164(2), 798-808.

Gotti, C., Zoli, M., & Clementi, F. (2006). Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends in pharmacological sciences*, 27(9), 482-491.

Hains, A. B., Vu, M. A. T., Maciejewski, P. K., van Dyck, C. H., Gottron, M., & Arnsten, A. F. (2009). Inhibition of protein kinase C signaling protects prefrontal cortex dendritic spines and cognition from the effects of chronic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(42), 17957-17962.

- Han, K. M., & Ham, B. J. (2021). How Inflammation Affects the Brain in Depression: A Review of Functional and Structural MRI Studies. *Journal of clinical neurology* (Seoul, Korea), 17(4), 503–515.
- Hare, B. D., & Duman, R. S. (2020). Prefrontal cortex circuits in depression and anxiety: contribution of discrete neuronal populations and target regions. *Molecular psychiatry*, 25(11), 2742-2758.
- Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current opinion in neurobiology*, 16(6), 710-715.
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(6), 555-579.
- Himmerich, H., Patsalos, O., Lichtblau, N., Ibrahim, M. A. A., & Dalton, B. (2019). Cytokine Research in Depression: Principles, Challenges, and Open Questions. *Frontiers in psychiatry*, 10, 30.
- Hirokawa, Nobutaka, and Marc D. Binder, eds. *Encyclopedia of Neuroscience*. Springer, 2009.
- IHME, Institute for Health Metrics and Evaluation (2019). Global Health Data Exchange. University of Washington. Consultado el 14 de octubre de 2021, en: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/d780dffbe8a381b25e1416884959e88b>
- Ji, M., Mao, M., Li, S., Zhang, L., Qiu, L., Li, B., Xia, J., & Yang, J. (2019). Acute ketamine administration attenuates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior by reversing abnormal regional homogeneity in the nucleus accumbens. *Neuroreport*, 30(6), 421–427.
- Ji, M. H., Lei, L., Gao, D. P., Tong, J. H., Wang, Y., & Yang, J. J. (2020). Neural network disturbance in the medial prefrontal cortex might contribute to cognitive impairments induced by neuroinflammation. *Brain, behavior, and immunity*, 89, 133–144.

- Jia, Y., Liu, L., Sheng, C., Cheng, Z., Cui, L., Li, M., Zhao, Y., Shi, T., Yau, T. O., Li, F., & Chen, L. (2019). Increased Serum Levels of Cortisol and Inflammatory Cytokines in People With Depression. *The Journal of nervous and mental disease*, 207(4), 271–276.
- Jiang, J., Tang, B., Wang, L., Huo, Q., Tan, S., Misrani, A., Han, Y., Li, H., Hu, H., Wang, J., Cheng, T., Tabassum, S., Chen, M., Xie, W., Long, C., & Yang, L. (2022). Systemic LPS-induced microglial activation results in increased GABAergic tone: A mechanism of protection against neuroinflammation in the medial prefrontal cortex in mice. *Brain, behavior, and immunity*, 99, 53–69.
- Jiang, P., Guo, Y., Dang, R., Yang, M., Liao, D., Li, H., Sun, Z., Feng, Q., & Xu, P. (2017). Salvianolic acid B protects against lipopolysaccharide-induced behavioral deficits and neuroinflammatory response: involvement of autophagy and NLRP3 inflammasome. *Journal of neuroinflammation*, 14(1), 239.
- Je Jeon, W., Dean, B., Scarr, E., & Gibbons, A. (2015). The Role of Muscarinic Receptors in the Pathophysiology of Mood Disorders: A Potential Novel treatment?. *Current neuropharmacology*, 13(6), 739-749.
- Johnson, D., Dupuis, G., Piche, J., Clayborne, Z., & Colman, I. (2018). Adult mental health outcomes of adolescent depression: A systematic review. *Depression and anxiety*, 35(8), 700-716.
- Kang, H. J., Voleti, B., Hajszan, T., Rajkowska, G., Stockmeier, C. A., Licznarski, P., Lepack, A., Majik, M. S., Jeong, L. S., Banasr, M., Son, H., & Duman, R. S. (2012). Decreased expression of synapse-related genes and loss of synapses in major depressive disorder. *Nature medicine*, 18(9), 1413–1417.
- Kaufmann, F. N., & Menard, C. (2018). Inflamed astrocytes: a path to depression led by menin. *Neuron*, 100(3), 511-513.
- Kolb, B., Mychasiuk, R., Muhammad, A., Li, Y., Frost, D. O., & Gibb, R. (2012). Experience and the developing prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(Supplement 2), 17186-17193.

- Koukouli, F., Rooy, M., Tziotis, D., Sailor, K. A., O'Neill, H. C., Levenga, J., Witte, M., Nilges, M., Changeux, J. P., Hoeffler, C. A., Stitzel, J. A., Gutkin, B. S., DiGregorio, D. A., & Maskos, U. (2017). Nicotine reverses hypofrontality in animal models of addiction and schizophrenia. *Nature medicine*, 23(3), 347–354.
- Kubera, M., Basta-Kaim, A., & Papp, M. (1995). The effect of chronic treatment with imipramine on the immunoreactivity of animals subjected to a chronic mild stress model of depression. *Immunopharmacology*, 30(3), 225-230.
- Kummer, K. K., Mitrić, M., Kalpachidou, T., & Kress, M. (2020). The medial prefrontal cortex as a central hub for mental comorbidities associated with chronic pain. *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3440.
- Lebedeva, A., Sundström, A., Lindgren, L., Stomby, A., Aarsland, D., Westman, E., Winblad, B., Olsson, T., & Nyberg, L. (2018). Longitudinal relationships among depressive symptoms, cortisol, and brain atrophy in the neocortex and the hippocampus. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 137(6), 491–502.
- Leem, Y. H., Yoon, S. S., & Jo, S. A. (2020). Imipramine ameliorates depressive symptoms by blocking differential alteration of dendritic spine structure in amygdala and prefrontal cortex of chronic stress-induced mice. *Biomolecules & Therapeutics*, 28(3), 230.
- Lendvai, B., & Vizi, E. S. (2008). Nonsynaptic chemical transmission through nicotinic acetylcholine receptors. *Physiological reviews*, 88(2), 333-349.
- Lewinsohn, P. M., Rohde, P., Klein, D. N., & Seeley, J. R. (1999). Natural course of adolescent major depressive disorder: I. Continuity into young adulthood. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 38(1), 56-63.
- Liao, J. C., Tsai, J. C., Liu, C. Y., Huang, H. C., Wu, L. Y., & Peng, W. H. (2013). Antidepressant-like activity of turmerone in behavioral despair tests in mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 1-8.
- López, J. J., García-Colunga, J., Pérez, E. G., & Fierro, A. (2018). Methylpiperidinium iodides as novel antagonists for $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors. *Frontiers in*

- pharmacology, 9, 744. Je Jeon, W., Dean, B., Scarr, E., & Gibbons, A. (2015). The Role of Muscarinic Receptors in the Pathophysiology of Mood Disorders: A Potential Novel treatment?. *Current neuropharmacology*, 13(6), 739-749.
- López-Valdes, H. E., & Garcia-Colunga, J. (2001). Antagonism of nicotinic acetylcholine receptors by inhibitors of monoamine uptake. *Molecular psychiatry*, 6(5), 511-519.
- Lozano, A. M., Lipsman, N., Bergman, H., Brown, P., Chabardes, S., Chang, J. W., Matthews, K., McIntyre, C. C., Schlaepfer, T. E., Schulder, M., Temel, Y., Volkmann, J., & Krauss, J. K. (2019). Deep brain stimulation: current challenges and future directions. *Nature reviews. Neurology*, 15(3), 148–160.
- Maitra, U., Deng, H., Glaros, T., Baker, B., Capelluto, D. G., Li, Z., & Li, L. (2012). Molecular mechanisms responsible for the selective and low-grade induction of proinflammatory mediators in murine macrophages by lipopolysaccharide. *The Journal of Immunology*, 189(2), 1014-1023.
- Marchi, M., & Grilli, M. (2010). Presynaptic nicotinic receptors modulating neurotransmitter release in the central nervous system: functional interactions with other coexisting receptors. *Progress in neurobiology*, 92(2), 105-111.
- Mao, Y., Zhang, N., Liu, J., Zhu, B., He, R., & Wang, X. (2019). A systematic review of depression and anxiety in medical students in China. *BMC medical education*, 19(1), 1-13.
- Mazgaee, L., & Gurung, P. (2020). Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems. *International journal of molecular sciences*, 21(2), 379.
- McCormick, C. M., & Mathews, I. Z. (2010). Adolescent development, hypothalamic-pituitary-adrenal function, and programming of adult learning and memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(5), 756-765.
- Mittli, D., Tukacs, V., Ravasz, L., Csósz, É., Kozma, T., Kardos, J., Juhász, G., & Kékesi, K. A. (2023). LPS-induced acute neuroinflammation, involving interleukin-1 beta

signaling, leads to proteomic, cellular, and network-level changes in the prefrontal cortex of mice. *Brain, behavior, & immunity - health*, 28, 100594.

Mineur, Y. S., & Picciotto, M. R. (2010). Nicotine receptors and depression: revisiting and revising the cholinergic hypothesis. *Trends in pharmacological sciences*, 31(12), 580-586.

Muhammad, A. J., Hao, L., Al Kury, L. T., Rehman, N. U., Alvi, A. M., Badshah, H., Ullah, I., Shah, F. A., & Li, S. (2022). Carveol Promotes Nrf2 Contribution in Depressive Disorders through an Anti-inflammatory Mechanism. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, 4509204.

Mullen, S. (2018). Major depressive disorder in children and adolescents. *Mental Health Clinician*, 8(6), 275-283.

NHS, National Health Service (2019). Treatment - Clinical depression. Treatment - Clinical depression. NHS. Consultado el 1 de mayo del 2022 en: <https://www.nhs.uk/mental-health/conditions/clinical-depression/treatment/>

Nova, Z., Skovierova, H., & Calkovska, A. (2019). Alveolar-capillary membrane-related pulmonary cells as a target in endotoxin-induced acute lung injury. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 831.

O'Connor, B. C., Lewandowski, R. E., Rodriguez, S., Tinoco, A., Gardner, W., Hoagwood, K., & Scholle, S. H. (2016). Usual care for adolescent depression from symptom identification through treatment initiation. *JAMA pediatrics*, 170(4), 373-380.

Osimo, E. F., Baxter, L. J., Lewis, G., Jones, P. B., & Khandaker, G. M. (2019). Prevalence of low-grade inflammation in depression: a systematic review and meta-analysis of CRP levels. *Psychological medicine*, 49(12), 1958-1970.

Ota, K. T., Liu, R. J., Voleti, B., Maldonado-Aviles, J. G., Duric, V., Iwata, M., Duthiel, S., Duman, C., Boikess, S., Lewis, D. A., Stockmeier, C. A., DiLeone, R. J., Rex, C., Aghajanian, G. K., & Duman, R. S. (2014). REDD1 is essential for stress-induced synaptic loss and depressive behavior. *Nature medicine*, 20(5), 531–535.

- Page, C. E., & Coutellier, L. (2019). Prefrontal excitatory/inhibitory balance in stress and emotional disorders: Evidence for over-inhibition. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 105, 39–51.
- Pandya, M., Altinay, M., Malone, D. A., & Anand, A. (2012). Where in the brain is depression?. *Current psychiatry reports*, 14(6), 634-642.
- Pehrson, A. L., & Sanchez, C. (2015). Altered γ -aminobutyric acid neurotransmission in major depressive disorder: a critical review of the supporting evidence and the influence of serotonergic antidepressants. *Drug design, development and therapy*, 9, 603.
- Philip, N. S., Carpenter, L. L., Tyrka, A. R., & Price, L. H. (2010). Nicotinic acetylcholine receptors and depression: a review of the preclinical and clinical literature. *Psychopharmacology*, 212(1), 1-12.
- .
- Pizzagalli, D. A., & Roberts, A. C. (2022). Prefrontal cortex and depression. *Neuropsychopharmacology*, 47(1), 225-246.
- Planchez, B., Surget, A., & Belzung, C. (2019). Animal models of major depression: drawbacks and challenges. *Journal of Neural Transmission*, 126(11), 1383-1408.
- Pomara, N., Bruno, D., Plaska, C. R., Pillai, A., Ramos-Cejudo, J., Osorio, R., Imbimbo, B. P., Heslegrave, A., Zetterberg, H., & Blennow, K. (2021). Evidence of upregulation of the cholinergic anti-inflammatory pathway in late-life depression. *Journal of affective disorders*, 286, 275–281.
- Poorthuis, R. B., Bloem, B., Schak, B., Wester, J., de Kock, C. P., & Mansvelder, H. D. (2013a). Layer-specific modulation of the prefrontal cortex by nicotinic acetylcholine receptors. *Cerebral cortex*, 23(1), 148-161.
- Poorthuis, R. B., & Mansvelder, H. D. (2013b). Nicotinic acetylcholine receptors controlling attention: behavior, circuits and sensitivity to disruption by nicotine. *Biochemical pharmacology*, 86(8), 1089-1098.

- Porsolt, R. D., Anton, G., Blavet, N., & Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European journal of pharmacology*, 47(4), 379-391.
- Rafful, C., Medina-Mora, M. E., Borges, G., Benjet, C., & Orozco, R. (2012). Depression, gender, and the treatment gap in Mexico. *Journal of affective disorders*, 138(1-2), 165-169.
- Ramírez, K., Shea, D. T., McKim, D. B., Reader, B. F., & Sheridan, J. F. (2015). Imipramine attenuates neuroinflammatory signaling and reverses stress-induced social avoidance. *Brain, behavior, and immunity*, 46, 212-220.
- Reinert, M., Fritze, D., & Nguyen, T. (2021). *The State of Mental Health in America 2022*. Mental Health America.
- Remes, O., Mendes, J. F., & Templeton, P. (2021). Biological, Psychological, and Social Determinants of Depression: A Review of Recent Literature. *Brain sciences*, 11(12), 1633.
- Rice, F., Riglin, L., Lomax, T., Souter, E., Potter, R., Smith, D. J., Thapar, A. K., & Thapar, A. (2019). Adolescent and adult differences in major depression symptom profiles. *Journal of affective disorders*, 243, 175–181.
- Rosenkranz, J. A., & Grace, A. A. (2002). Cellular mechanisms of infralimbic and prelimbic prefrontal cortical inhibition and dopaminergic modulation of basolateral amygdala neurons in vivo. *Journal of Neuroscience*, 22(1), 324-337.
- Sanacora, G., Treccani, G., & Popoli, M. (2012). Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. *Neuropharmacology*, 62(1), 63-77.
- Scholze, P., & Huck, S. (2020). The $\alpha 5$ nicotinic acetylcholine receptor subunit differentially modulates $\alpha 4\beta 2^*$ and $\alpha 3\beta 4^*$ receptors. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 12.

- Sherafat, Y., Bautista, M., & Fowler, C. D. (2021). Multidimensional intersection of nicotine, gene expression, and behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 15, 39.
- Shorey, S., Ng, E. D., & Wong, C. H. J. (2022). Global prevalence of depression and elevated depressive symptoms among adolescents: A systematic review and meta-analysis. *The British journal of clinical psychology*, 61(2), 287–305.
- Shytle, R. D., Silver, A. A., Sheehan, K. H., Sheehan, D. V., & Sanberg, P. R. (2002). Neuronal nicotinic receptor inhibition for treating mood disorders preliminary controlled evidence with mecamylamine. *Depression and anxiety*, 16(3), 89-92.
- Sturman, D. A., & Moghaddam, B. (2011). The neurobiology of adolescence: changes in brain architecture, functional dynamics, and behavioral tendencies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(8), 1704-1712.
- Taly, A., Corringer, P. J., Guedin, D., Lestage, P., & Changeux, J. P. (2009). Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system. *Nature reviews Drug discovery*, 8(9), 733-750.
- Thapar, A., Collishaw, S., Pine, D. S., & Thapar, A. K. (2012). Depression in adolescence. *The lancet*, 379(9820), 1056-1067.
- Tirelli, E., Laviola, G., & Adriani, W. (2003). Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents.
- Treadway, M. T., Waskom, M. L., Dillon, D. G., Holmes, A. J., Park, M. T. M., Chakravarty, M. M., Dutra, S. J., Polli, F. E., Iosifescu, D. V., Fava, M., Gabrieli, J. D. E., & Pizzagalli, D. A. (2015). Illness progression, recent stress, and morphometry of hippocampal subfields and medial prefrontal cortex in major depression. *Biological psychiatry*, 77(3), 285–294.
- Uliana, D. L., Gomes, F. V., & Grace, A. A. (2020). Prelimbic medial prefrontal cortex disruption during adolescence increases susceptibility to helpless behavior in adult rats. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 35, 111–125.

- Vogel, W. (2012). Depression in children and adolescents. CME: Your SA Journal of CPD, 30(4), 114-117.
- Wabno, J., & Hess, G. (2013). Repeated administration of imipramine modifies GABAergic transmission in rat frontal cortex. *Journal of Neural Transmission*, 120, 711-719.
- Wang, J., & Lindstrom, J. (2018). Orthosteric and allosteric potentiation of heteromeric neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *British journal of pharmacology*, 175(11), 1805-1821.
- Wang, M., Perova, Z., Arenkiel, B. R., & Li, B. (2014). Synaptic modifications in the medial prefrontal cortex in susceptibility and resilience to stress. *Journal of Neuroscience*, 34(22), 7485-7492.
- Wohleb, E. S., Franklin, T., Iwata, M., & Duman, R. S. (2016). Integrating neuroimmune systems in the neurobiology of depression. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(8), 497-511.
- WHO, World Health Organization. (2017). Depression and Other Common Mental Disorders Global Health Estimates. Consultado 16 de noviembre de 2022, en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf>
- WHO, World Health Organization. (2021a). Depression and Other Common Mental Disorders Global Health Estimates. Geneva.
- WHO, World Health Organization. (2021b). Adolescent mental health. Consultado el 2 de noviembre de 2022, en: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/adolescent-mental-health>
- Xu, A., Cui, S., & Wang, J. H. (2016). Incoordination among Subcellular Compartments Is Associated with Depression-Like Behavior Induced by Chronic Mild Stress. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 19(5), pyv122. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv122>

- Yang, M., Dang, R., Xu, P., Guo, Y., Han, W., Liao, D., & Jiang, P. (2018). DI-3-n-Butylphthalide improves lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in rats: involvement of Nrf2 and NF- κ B pathways. *Psychopharmacology*, 235(9), 2573-2585.
- Yang, Z., Yang, J. J., Zhu, P. J., Han, H. M., Wan, X. L., Yang, H. M., & Wang, Z. Y. (2022). Effects of betaine on growth performance, intestinal health, and immune response of goslings challenged with lipopolysaccharide. *Poultry Science*, 101(11), 102153.
- Yin, L., Xu, X., Chen, G., Mehta, N. D., Haroon, E., Miller, A. H., Luo, Y., Li, Z., & Felger, J. C. (2019). Inflammation and decreased functional connectivity in a widely-distributed network in depression: Centralized effects in the ventral medial prefrontal cortex. *Brain, behavior, and immunity*, 80, 657–666.
- Yin, Y. Y., Wang, Y. H., Liu, W. G., Yao, J. Q., Yuan, J., Li, Z. H., Ran, Y. H., Zhang, L. M., & Li, Y. F. (2021). The role of the excitation:inhibition functional balance in the mPFC in the onset of antidepressants. *Neuropharmacology*, 191, 108573.
- Yu, G., Cao, F., Hou, T., Cheng, Y., Jia, B., Yu, L., Chen, W., Xu, Y., Chen, M., & Wang, Y. (2022). Astrocyte reactivation in medial prefrontal cortex contributes to obesity-promoted depressive-like behaviors. *Journal of neuroinflammation*, 19(1), 166.
- Zhang, Y., Takagi, N., Yuan, B., Zhou, Y., Si, N., Wang, H., Yang, J., Wei, X., Zhao, H., & Bian, B. (2019). The protection of indolealkylamines from LPS-induced inflammation in zebrafish. *Journal of ethnopharmacology*, 243, 112122.
- Zhong, Y., Zhang, X., Hu, X., & Li, Y. (2018). Effects of Repeated Lipopolysaccharide Treatment on Growth Performance, Immune Organ Index, and Blood Parameters of Sprague-Dawley Rats. *Journal of veterinary research*, 62(3), 341–346.
- Zhou, Y., Huang, S., Wu, F., Zheng, Q., Zhang, F., Luo, Y., & Jian, X. (2021). Atractylenolide III reduces depressive-and anxiogenic-like behaviors in rat depression models. *Neuroscience Letters*, 759, 136050.

Zoli, M., Pistillo, F., & Gotti, C. (2015). Diversity of native nicotinic receptor subtypes in mammalian brain. *Neuropharmacology*, 96, 302-311.

Zonca, V. (2021). Preventive strategies for adolescent depression: what are we missing? A focus on biomarkers. *Brain, Behavior, & Immunity-Health*, 18, 100385.

Zou, W., Feng, R., & Yang, Y. (2018). Changes in the serum levels of inflammatory cytokines in antidepressant drug-naïve patients with major depression. *PloS one*, 13(6), e0197267.