



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Análisis neuromorfológico de la corteza prefrontal
en un modelo de depresión en ratas Wistar
(macho intacto y hembra ovariectomizada)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Patricia Sánchez Teoyotl

Director:
Dr. Julio César Morales Medina

Tlaxcala, Tlax.

Febrero 2023



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Análisis neuromorfológico de la corteza prefrontal
en un modelo de depresión en ratas Wistar
(macho intacto y hembra ovariectomizada)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Patricia Sánchez Teoyotl

Director:
Dr. Julio César Morales Medina

Tlaxcala, Tlax.

Febrero 2023

Este proyecto de investigación fue realizado en el Centro de Investigación en Reproducción Animal Dr. Carlos Beyer Flores CINVESTAV-UATx, bajo la dirección del Dr. Julio César Morales Medina.



En el Centro de Investigación de Genética y Ambiente (CIGyA), en el cual, se permitió el uso de vibratomo y microscopio con cámara lucida.



Este proyecto de Maestría fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con la beca otorgada con número de registro: 773279. La Maestría en Ciencias Biológicas se encuentra registrado en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC).





**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Patricia Sánchez Teoyotl** realiza para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Análisis neuromorfológico de la corteza prefrontal en un modelo de depresión en rata Wistar (macho intacto y hembra ovariectomizada)”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., A 20 DE FEBRERO DEL 2023

DRA. JULIA FLORES TOCHIHUITL

DR. JULIO CÉSAR MORALES MEDINA

DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO

DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO

DRA. ERICKA SANTACRUZ JUÁREZ



CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL I.P.N.
Ave. Instituto Politécnico Nacional 2508 Col. San Pedro Zacatenco
México, D.F., C.P. 07300

LABORATORIO TLAXCALA

**COMITÉ ACADÉMICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis realizada por la estudiante **Patricia Sánchez Teoyotl** titulada “**Análisis neuromorfológico de la corteza prefrontal en un modelo de depresión en rata Wistar (macho intacto y hembra ovariectomizada)**” para optar por su grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**.

El documento de la tesis de **Patricia Sánchez Teoyotl** fue revisado por mí como director de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y, posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de enero, el documento final de la tesis fue procesado con el programa del Turnitin marcando menos del 11% de similitud general. Las similitudes se observaron en la sección de hoja de presentación, agradecimientos, índice y metodología, correspondiendo a lenguaje común por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio.

Por lo anterior, confirmo que **la estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable** en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE
Tlaxcala, Tlax., a 25 de Febrero de 2023

Dr. Julio César Morales Medina
Director de tesis

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas del CTBC, UATx, por ser la institución que me formó. A mis maestros que forman parte de esta institución, por sus apreciables consejos y sus métodos de enseñanza.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca CONACYT con el número: 773279.

A los miembros de mi comité, al Dr. Julio César Morales Medina, a la Dra. Rosa Angelica Lucio Lucio y a la Dra. Julia Flores Tochiuitl, por ser parte de mi comité. Además, por la dedicación y sus apreciables comentarios para que se llevara a cabo esta tesis.

A mi comité evaluador, a la Dra. Estela Cuevas Romero y a la Dra. Ericka Santa Cruz Juárez, por la revisión a mi escrito y su participación en la defensa de tesis.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Julio César Morales Medina, por su apoyo incondicional durante mi estancia en el laboratorio. Le agradezco infinitamente que haya confiado en mí, para la realización de mis proyectos tanto de licenciatura como de maestría. Por impulsarme a participar en congresos y alentarme a seguir en este camino.

A la Dra. Gabriela González-Mariscal Muriel, por permitirme la permanencia en el laboratorio CIRA.

A la Dra. Arely Anaya Hernández, por su ayuda en la realización de las cirugías (ovariectomías), por su tiempo y dedicación, pero sobre todo por tenerme paciencia.

A mis compañeros de laboratorio al Mtro. Gumaro Galindo Paredes y al Mtro. Mario Alberto Bautista Carro, por su apoyo durante los experimentos, y por hacerme la vida más amena. Les agradezco por que más que compañeros han sido mis amigos.

Le agradezco al personal del CIRA, por su hospitalidad durante mi estancia en el laboratorio, por su amabilidad y por darme siempre una mano amiga.

A mi familia, principalmente a mis padres por apoyarme durante todo este transcurso, por confiar en mí y porque nunca me dejaron sola.

A mis hermanas: Sara, Jime y Brenda, porque también sin su apoyo no habría podido culminar este objetivo.

A mi esposo Humberto, gracias por no dejar que me rendiera y por apoyar mis sueños.

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico a mi familia, en especial a mi pequeña Dara Sofía Juárez Sánchez y a Humberto Juárez, quienes han sido mi impulso para seguir adelante.

RESUMEN

Introducción. El trastorno depresivo mayor (TDM) es una perturbación mental, grave y debilitante que afecta al sistema nervioso central (SNC). El TDM es considerado un problema de salud pública debido a su alta prevalencia a nivel mundial, el cual, afecta dos veces más a mujeres que a hombres. En las etapas de la vida, en la que los niveles de estradiol disminuyen, las mujeres presentan mayor susceptibilidad a padecer TDM. La etiología de este padecimiento es compleja y se ha asociado a factores psicosociales, genéticos y biológicos. La plasticidad neuronal es un mecanismo que podría explicar la etiología del TDM. La bulbectomía olfatoria (OBX) es un modelo animal de depresión, puesto que la extirpación de los bulbos olfatorios (BO) genera un impacto en las funciones del SNC afectando a la corteza prefrontal (CPF), hipocampo dorsal (HD) y amígdala basolateral (BLA). **Objetivo.** Evaluar los efectos de la OBX en la morfología dendrítica neuronal de la CPF, HD y BLA en ratas de la cepa Wistar (macho intactas y hembra ovariectomizada). **Metodología.** Se estudió la morfología dendrítica de neuronas piramidales en ratas con OBX macho y hembras, por medio de la tinción de Golgi-Cox y el análisis de Sholl. **Resultados.** En ratas macho con OBX, los resultados indican hipertrofia de la arborización dendrítica neuronal en la BLA. Mientras que, en la CPF capa V hay reducción significativa de la densidad de espinas. Sin embargo, no se muestran cambios para el orden, longitud dendrítica total (LDT), densidad y tipificación de espinas para estas regiones. De igual manera, las ratas macho con OBX no mostraron cambios significativos para la CPF capa III y el HD CA1 y CA3. En el caso de las hembras, el análisis estadístico no mostró cambios significativos en ninguno de los parámetros evaluados de las regiones analizadas. **Conclusión.** La OBX en ratas macho de la cepa Wistar mostraron hipertrofia de la arborización dendrítica neuronal en la BLA. Mientras que en la CPF capa V hubo disminución de la densidad de espinas. Por lo anterior, podemos deducir que el modelo de la OBX induce pérdida de la estabilidad sináptica y por ende conduce a la interrupción de los circuitos neuronales entre el sistema límbico y cortical, que se encuentran involucrados en procesos afectivos y la formación de memoria.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	13
1.1 Trastorno depresivo mayor	13
1.2 Estradiol en el TDM	13
1.3 Sistema nervioso central	14
1.4 Corteza prefrontal	15
1.5 Hipocampo dorsal	17
1.6 Amígdala	18
1.7 Arborización dendrítica y espinas dendríticas	18
1.8 Plasticidad sináptica	19
1.9 El olfato y los bulbos olfatorios	21
1.10 Bulbectomía olfatoria	22
II. ANTECEDENTES	24
2.1 Antecedentes clínicos	24
2.2 El estrés crónico modifica la morfología neuronal en la CPF	24
2.3 Estrés crónico y morfología de dendritas en la CPF en ratas macho y hembras	25
2.4 Tratamiento agudo con CORT y remodelación dendrítica en CPF y BLA	26
2.5 Estrés repetido y morfología de espinas dendríticas de la CPF en ratas macho	27
2.6 Glucocorticoides y neuromorfología del hipocampo	27
2.7 Estrés y cambios morfológicos en dendríticas neuronales del HD CA3	28
2.8 CORT y reorganización morfológica neuronal en HDCA1	29
2.9 CORT e hipertrofia la morfología neuronal en la BLA	30
2.10 Estrés por restricción crónica y densidad de espinas en la BLA	30
2.11 OBX y atrofia la morfología dendrítica neuronal en ratas macho	31
III. JUSTIFICACIÓN	33
IV. HIPÓTESIS	34
V. OBJETIVOS	34
5.1 General	34
5.2 Específicos	34
VI. METODOLOGÍA	35
6.1 Diseño experimental	35

6.2	Animales de experimentación	35
6.3	Cirugía OVX	36
6.4	Cirugía OBX.....	36
6.5	Criterios de selección	37
6.6	Criterios de eliminación	38
6.7	Definición de variables y escala de medición.....	38
6.8	Técnica de Golgi-Cox.....	40
6.9	Revelado.....	40
6.10	Análisis neuromorfológico.....	41
	6.10.1. Arborización dendrítica.....	41
	6.10.2 Densidad y tipificación de espinas	42
	6.10.3 Análisis estadístico	43
VII.	RESULTADOS	44
7.1	Arborización dendrítica neuronal de la BLA y OBX en ratas macho	44
7.2	OBX y densidad de espinas dendríticas en la CPF capa V de ratas macho	45
7.3	OBX y morfología dendrítica neuronal en la CPF capa III en ratas	46
7.4	OBX y morfología de neuronas piramidales en el subcampo CA1 HD	47
7.5	Morfología de células piramidales de HD CA3 en ratas macho y hembra OBX	48
VIII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	49
8.1	OBX e hipertrofia dendrítica neuronal en BLA de ratas macho	50
8.2	OBX y densidad de espinas dendríticas neuronales en la CPF capa V	51
8.3	OBX y morfología dendrítica neuronal en HD CA1 y CA3.....	53
8.4	OBX y densidad y tipificación de espinas en el sistema límbico- cortical	54
IX.	CONCLUSIÓN	55
X.	PERSPECTIVAS.....	55
XI.	REFERENCIAS	56
XII.	GLOSARIO DE TÉRMINOS	63
XIII.	Anexos.....	64
13.1	Presentación de trabajo libre en el 9no congreso virtual de ciencias químico-biológicas	64
13.2	Presentación de cartel en la XIV Jornadas de Ciencias Químicas Dra. Rosalina Carrillo Núñez.....	65
13.3	Presentación de seminario en la Maestría de Ciencias Biológicas de la UATx.....	66

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Trastorno depresivo mayor

El trastorno depresivo mayor (TDM) es una perturbación mental grave y debilitante que afecta al sistema nervioso central (SNC) (Guadarrama et al., 2006). Se caracteriza por presentar anhedonia, desesperanza, culpa exacerbada, síntomas físicos, deficiencia de memoria y reduce la calidad de vida de los pacientes. En condiciones graves puede conducir al suicidio (Morales-Medina et al., 2017a). El TDM es considerado un problema de salud pública, con alta prevalencia en la población mundial (Sarró-Maluquer et al., 2013). Desde la adolescencia hasta la edad adulta, la depresión se presenta dos veces más en mujeres que en hombres (Vega-Rivera et al., 2012).

La etiología de la depresión es compleja y no se conoce la fisiopatología de este desorden. Sin embargo, se han propuesto varias hipótesis para explicarlo, entre las cuales se encuentran la deficiencia de aminas biogénicas, factores genéticos, factores ambientales, inmunológicos, endocrinos y neurogénesis (Jesulola et al., 2018). Los primeros episodios depresivos surgen a causa del estrés ambiental y/o a factores genéticos, que desencadenan respuestas inmunológicas y endocrinas generando a largo plazo cambios en el SNC, tanto a nivel estructural como funcional (Jesulola et al., 2018; Vega-Rivera et al., 2012).

1.2 Estradiol en el TDM

El género es una variable importante que influye en el TDM (Récamier-Carballo et al., 2012). En las etapas en las que los niveles de estradiol disminuyen (perimenopausia y menopausia), la susceptibilidad de la mujer a desarrollar TDM aumenta (Graziottin y Serafini, 2009). En el caso de las ratas en la fase de estro y diestro y en ratas ovariectomizadas (OVX) se han evidenciado comportamientos similares a la depresión y ansiedad (Kim et al., 2020). Debido a que la OVX reduce las hormonas sexuales femeninas de forma similar a la disminución que ocurre en mujeres menopáusicas (Kim et al., 2020).

El estradiol no solo influye en procesos reproductivos, sino que también produce efectos biológicos en todo el cuerpo incluyendo el SNC durante el desarrollo y la edad adulta (Wolley

et al., 1990). El estradiol es sintetizado en el SNC y lleva a cabo diferentes funciones tales como, modulación de la homeostasis cerebral, la plasticidad sináptica y protección neuronal (Graziottin y Serafini, 2009). El estradiol cumple con estas funciones por medio de tres mecanismos, el primero es la interacción con receptores de estradiol citoplasmáticos, el segundo es mediante la interacción con proteínas de las vías de señalización y el último es a través del efecto antioxidante por el grupo hidroxilo del anillo A, que actúa como neutralizador de radicales libres (Barrera Ocampo et al., 2008).

En el SNC se encuentran dos tipos de receptores a estrógenos (RE), los RE α y los RE β , distribuidos en el hipocampo, amígdala, hipotálamo, cerebelo, hipófisis anterior, corteza cerebral en particular y la corteza prefrontal (CPF) (Tabla 1) (Vega-Rivera et al., 2012). Los RE se encargan de regular la neurotransmisión monoaminérgica y modular la plasticidad neuronal (Vega-Rivera et al., 2012). Tanto el estradiol como sus receptores interactúan con diferentes vías de señalización, tal como, con la ruta PI3K/AKT/GSK3 β (Barrera Ocampo et al., 2008). En los estudios en ratas hembra adultas, la densidad de espinas dendríticas en neuronas piramidales CA1 del hipocampo dorsal (HD) a medida que los niveles de estradiol disminuyen (fase de diestro) (Wolley et al., 1990) y se reduce la actividad neuronal (Rachman et al., 1998).

Tabla 1. Distribución de los receptores de estradiol en el SNC.

REα	REβ
<ul style="list-style-type: none"> • Hipotálamo • Hipocampo CA1 y CA3 • Corteza prefrontal 	<ul style="list-style-type: none"> • Hipocampo • Amígdala • Hipófisis anterior

1.3 Sistema nervioso central

El SNC controla todas las funciones corporales, además tiene la capacidad de percibir y responder a estímulos externos e internos (Camacho Ugarte et al., 2020). Esta compleja estructura integra, coordina y controla las interacciones de un organismo con su medio (Camacho Ugarte et al., 2020). El SNC está conformado por el encéfalo y la médula espinal, el encéfalo a su vez se divide en tres: prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo (Aguilar-Morales, 2011). El prosencéfalo es la parte anterior del cerebro y está dividido en él diencefalo y telencefalo. En este último se encuentra la corteza cerebral, el sistema límbico y los ganglios

basales (Fig.1) (Aguilar-Morales, 2011). Para llevar a cabo el funcionamiento del SNC, la diferentes estructuras que conforman al encéfalo y la médula espinal se comunican a través de numerosas vías nerviosas (Camacho Ugarte et al., 2020), la identificación de las vías nerviosas y sus mecanismos moleculares son de ayuda para comprender la fisiopatología del TDM (Perez-Padilla et al., 2017).

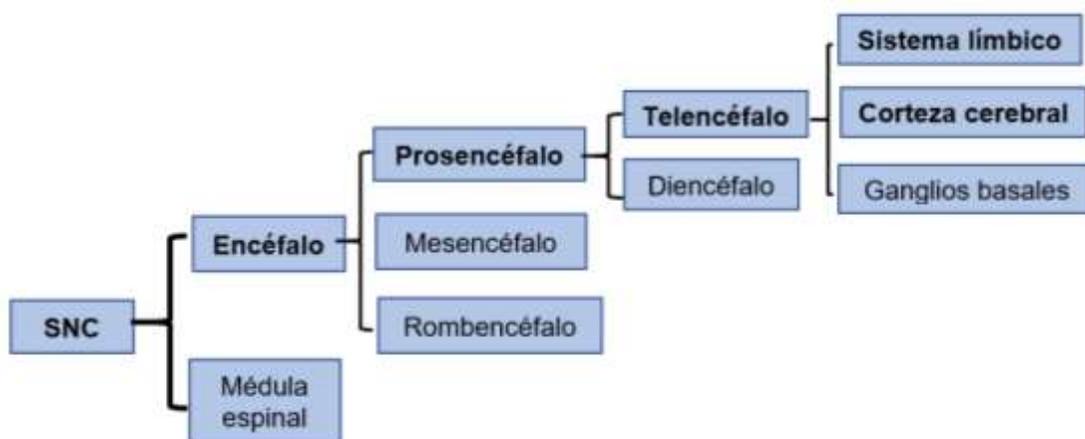


Figura 1. El SNC está conformado por diversas estructuras que se comunican a través de numerosas vías nerviosas, para llevar a cabo la integración, coordinación y control de las interacciones de un organismo con su medio (Camacho Ugarte et al., 2020).

1.4 Corteza prefrontal

La CPF se encuentra ubicada en la parte rostral del lóbulo frontal, posee conectividad con el núcleo mediodorsal del tálamo (Puig Velasco et al., 2019). En humanos, la CPF es una región de las más desarrolladas, ya que participa en el procesamiento de la memoria, en la toma de decisiones, en el desarrollo de conductas motivadas y mantiene relación en procesos emocionales (Sánchez-Navarro y Román, 2004a; Valdés y Torrealba, 2006a). Se encuentra dividida en la corteza orbitofrontal, medial y dorsolateral, siendo esta última la más desarrollada (Guyton y Hall, 2011). En ratas se localizan tres regiones análogas a la CPF: lateral, orbital y medial. Esta última se subdivide en cingulada anterior (Cg1), prelímbica (PL) e infralímbica (Puig Velasco et al., 2019). La actividad de estas subdivisiones se ha relacionado con funciones cognitivas, conducta motora, social, afectiva y mnemónica (Puig et al., 2004). La importancia de la CPF se debe a su amplia conectividad con distintas regiones del SNC, lo que hace de ésta una región integradora de información, con funciones sumamente desarrolladas (Sánchez-Navarro y Román, 2004a; Silva, 2005). Además, las interconexiones de la CPF con la amígdala

y el hipocampo se han relacionado con el control de las emociones (Fig. 2) (Puig et al., 2004). Por lo anterior, el desempeño anormal de la CPF podría ser crítico y con llevar a la aparición de alteraciones emocionales (Sánchez-Navarro y Román, 2004).

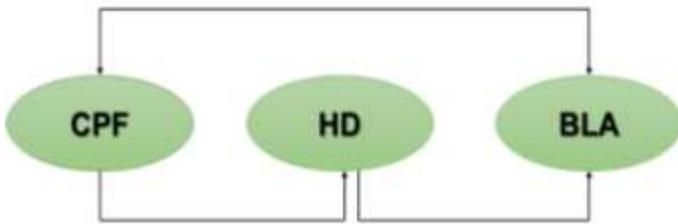


Figura 2. La CPF interconecta con la amígdala (BLA) y el hipocampo dorsal (HD), y en conjunto participan en el control del comportamiento emocional.

La CPF está conformada principalmente por neuronas piramidales (~75-80% del total de la población neuronal) glutamatérgicas (Puig et al., 2004). Las neuronas piramidales tienen un soma cuyo perímetro es de aproximadamente 25-50 μm , tienen también dendritas basales y una dendrita apical que proyecta hacia las capas superficiales de la CPF (Fig. 3) (Puig et al., 2004). La CPF está constituida por diferentes capas y de éstas depende el tipo de proyección neuronal (Puig et al., 2004). Las neuronas de la capa II y III proyectan a otras áreas de la corteza mientras que, las de la capa VI al tálamo y a zonas corticales, las de las capas V y VIa envían señales eferentes hacia estructuras subcorticales (Puig et al., 2004). La importancia de las neuronas de la capa III es que utilizan como transmisor a los aminoácidos excitatorios como aspartato y glutamato, además esta capa contiene fibras de asociación callosa y cortical (Puig et al., 2004). Por su parte, la capa V se encuentra conformada por dos tipos de células bipolares no espinosas, unas inhibitorias y otras excitatorias. Esta capa contiene células piramidales más grandes, que proyectan a axones de neuronas del cuerpo estriado y descienden a los ganglios basales, tallo cerebral y médula espinal (Zhang, 2004).

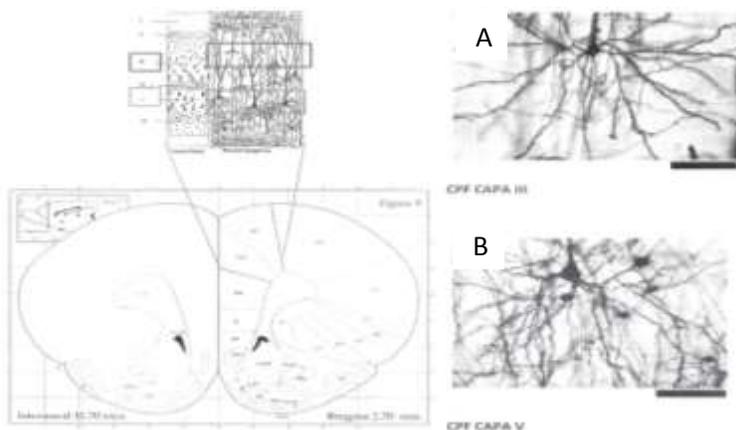


Figura 3. Neuronas de la CPF capa III y V. Las neuronas piramidales de la capa III (A) también conocida como piramidal externa, se caracterizan por ser tener un soma de menor tamaño en comparación a las neuronas de la capa interna o capa V (B) (modificado de Spruston, 2008).

1.5 Hipocampo dorsal

El hipocampo es una estructura límbica, ubicada en el lóbulo temporal que va desde el hipotálamo a la amígdala (Olivares Hernández et al., 2015). El hipocampo es una estructura reconocida como principal sitio neurogénico (Camacho Ugarte et al., 2020). La función de esta estructura es la adquisición del aprendizaje espacial y de la memoria tanto a largo como a corto plazo en humanos, primates y roedores (Fanselow y Dong, 2010; Olivares Hernández et al., 2015).

A lo largo del eje longitudinal, el hipocampo se divide en tres partes: dorsal, intermedia y ventral (Fanselow y Dong, 2010), y a lo largo del eje transversal en CA1, CA2, CA3 y giro dentado (DG) (Fig. 4) (Yang y Wang, 2017). El HD se asocia con la navegación espacial y la memoria episódica (Yang y Wang, 2017). Esta estructura del SNC mantiene conexión con áreas procedentes a regiones corticales a través de la vía perforante, la cual se origina en la corteza entorrinal (CE). Además, el HD se caracteriza por poseer alta concentración de receptores a glucocorticoides y glutamato (Yang y Wang, 2017).

La citoarquitectura del hipocampo fue establecida por Ramon y Cajal (1901), en la cual mostraron las propiedades morfológicas de las neuronas piramidales CA1 de tamaño pequeño y CA3 neuronas piramidales de mayor tamaño (Fanselow y Dong, 2010). La región dorsal CA1 se caracteriza por contener mayor densidad y selectividad de células que codifican la ubicación espacial (Fanselow y Dong, 2010). Las neuronas de la subregión CA1 tienen un soma de aproximadamente 20 μm de diámetro y una longitud de ~120 a 135 μm , además, reciben proyecciones de los axones neuronales CA3 (Olivares Hernández et al., 2015). Mientras que, las células piramidales de la subregión CA3 presentan un cuerpo celular de aproximadamente

30 μm y una longitud de ~ 300 a $270 \mu\text{m}$ (Ishizuka et al., 1995). Las neuronas de la región CA3 proyectan sus axones hacia las dendritas de las neuronas CA1 y hacia todo el hipocampo a través de proyecciones comisurales, entre hemisferios (Olivares Hernández et al., 2015).

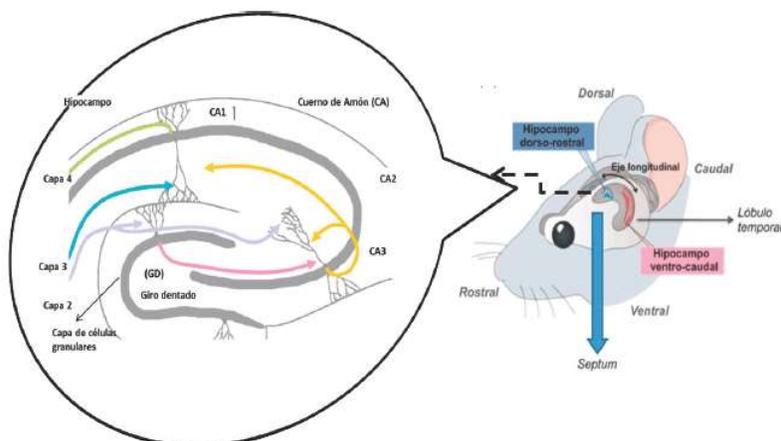


Figura 4. División anatómica del hipocampo. El hipocampo se encuentra dividido en la corteza subicular, el cuerno de Amón que se divide en, CA1, CA2, CA3 y GD. (Tomado de Camacho Ugarte et al., 2020).

1.6 Amígdala

La amígdala es una estructura subcortical, localizada en la porción medial del lóbulo temporal de los mamíferos, conformada por un grupo de núcleos: el núcleo basolateral, centromedial y cortical (Torres et al., 2001; Benarroch, 2015). La amígdala basolateral (BLA) contiene al núcleo lateral (LA), basal (BA) y basomedial (BM) (Yang y Wang, 2017). Funcionalmente, la BLA pertenece al sistema límbico y se encarga del procesamiento de información que recibe del entorno, capta los estímulos para el reconocimiento de las emociones y el comportamiento, tanto en animales como en humanos (Benarroch, 2015; Yang y Wang, 2017), puesto que, mantiene conexiones recíprocas con otras estructuras límbicas y corticales (Sánchez-Navarro y Román, 2004). La BLA tiene una composición neuronal similar a la corteza cerebral, en su mayoría por neuronas piramidales glutamatérgicas espinosas e interneuronas ácido γ -aminobutírico (GABA)érgicas, moléculas inhibitorias del SNC (Benarroch, 2015). En humanos, la BLA implicada en enfermedades emocionales y pérdida de la memoria, como la enfermedad de Alzheimer, ansiedad y depresión (Yang y Wang, 2017).

1.7 Arborización dendrítica y espinas dendríticas

Las dendritas neuronales se encuentran ramificadas y poseen una longitud menor a un milímetro (Fiala et al., 1999). Esta organización tridimensional del árbol dendrítico neuronal permite

determinar la capacidad de procesamiento de información de las células neuronales (Ishizuka et al., 1997). La importancia de las dendritas es que se encuentran involucradas en la comunicación sináptica dado que poseen espinas a lo largo de toda la longitud dendrítica (Fiala et al., 1999), ayudan al procesamiento de información tanto externa como interna para que el SNC genere una respuesta (Kulkarni y Firestein, 2012a).

Las espinas dendríticas de las neuronas son pequeñas protuberancias membranosas, delgadas y especializadas del eje dendrítico, y son el sitio en donde ocurre más del 90% de todas las sinapsis excitatorias del SNC (Qiao et al., 2016). Las espinas dendríticas según su morfología se clasifican en cuatro tipos: delgadas, hongo, gruesas y bifurcadas (Fig. 5). Las espinas tipo hongo presentan una cabeza grande y cuello estrecho, además, tienen la capacidad de formar sinapsis fuertes (Bloss et al., 2011). Las espinas delgadas son aquellas que tienen la cabeza más pequeña y cuello estrecho, y a diferencia de las espinas en forma de hongo forman sinapsis débiles (Chidambaram et al., 2019). Las espinas gruesas que no muestran limitaciones entre la cabeza y el accesorio al eje, y las ramificadas que tienen dos cabezas unidas a un cuello estrecho (Chidambaram et al., 2019).



Figura 5. Las espinas dendríticas presentan diferentes formas y tamaños según su grado de madurez, siendo las de tipo hongo las más maduras y con mayor estabilidad y las de tipo delgada se consideran más inestables (Tomado de Spruton, 2008).

1.8 Plasticidad sináptica

Las sinapsis químicas son conexiones que transmiten información desde las neuronas presinápticas a las postsinápticas, y se encargan de modular el flujo de información de los circuitos nerviosos (Valencia y Colín, 2017). El SNC se modifica en respuesta a cambios en el ambiente, lo que conlleva a cambios estructurales de neuronas y a este proceso se le conoce como plasticidad (Kolb y Whishaw, 1998). Las dendritas y las espinas dendríticas son capaces de modificar su estructura para formar o eliminar sinapsis como respuesta a la experiencia (Kolb

et al., 2017). La plasticidad sináptica está regida por diversas modificaciones tanto estructurales como funcionales, la potenciación a largo plazo (LTP), la sinaptogénesis y la remodelación dendrítica y axonal (Bello-Medina et al., 2021).

La plasticidad neuronal se ha medido utilizando la tinción de Golgi Cox (Kolb y Whishaw, 1998). La tinción de Golgi Cox es una técnica histológica utilizada para el estudio de la morfología neuronal en tercera dimensión (Mi-Yeon Kim et al., 2013). Este método se fundamenta en el principio de impregnación metálica de las neuronas, y permite la visualización del cuerpo celular completo y el árbol dendrítico (Mi-Yeon Kim et al., 2013). La arborización dendrítica es una estructura dinámica ramificada, esencial en la plasticidad estructural y funcional del cerebro (Kulkarni y Firestein, 2012a). Representa el 75% del volumen de una neurona, lo que lo convierte en el sitio principal de impulsos excitadores e inhibitorios (Torres-Fernández et al., 2007). Los procesos de plasticidad en la arborización dendrítica se manifiestan a través de la extensión y retracción de las dendritas (Kulkarni y Firestein, 2012a). Por lo tanto, el patrón de ramificación y longitud dendrítica total (LDT) permiten determinar el número y distribución de conexiones sinápticas que se encuentran en una neurona (Kulkarni y Firestein, 2012a).

Debido a que en mayor parte las sinapsis excitatorias ocurren en las espinas dendríticas, la plasticidad sináptica de las espinas se ve asociada a la modificación de su estructura y número para formar o eliminar sinapsis en cuestión de minutos (Kolb et al., 2017). El número de espinas dendríticas varía de aproximadamente 1 a 10 espinas/ μm de longitud por dendrita, la cual, depende del tipo de neurona y la etapa de desarrollo en la que se encuentra (Chidambaram et al., 2019). La densidad de espinas dendríticas depende de diversos factores, como terapias farmacológicas, hormonales, aprendizaje y condición patológica (Chidambaram et al., 2019), la variación en la forma de las espinas dendríticas se ha asociado a diferentes procesos del SNC. La presencia de espinas delgadas está relacionada con procesos cognitivos como el aprendizaje, las de tipo hongo con memoria, y las gruesas como reguladores de la excitabilidad a través de la regulación del ion calcio (Bello-Medina et al., 2021). Estos cambios en la estructura y función de las espinas dendríticas determinan la estabilidad y fuerza sináptica que ejercen sobre la función neuronal (Bloss et al., 2011). Siendo las espinas en forma de hongo las más estables y las delgadas las de menor estabilidad (Chidambaram et al., 2019).

La plasticidad sináptica en las espinas dendríticas requiere tres eventos. En el primero, la actina cambia de la fase de equilibrio hacia f-actina; en el segundo, la molécula de actina se acumula en la cabeza de la espina y finalmente hay una expansión de las espinas dendríticas (Fig. 6) (Hayashi Yasunori y Majewska Ania, 2005).

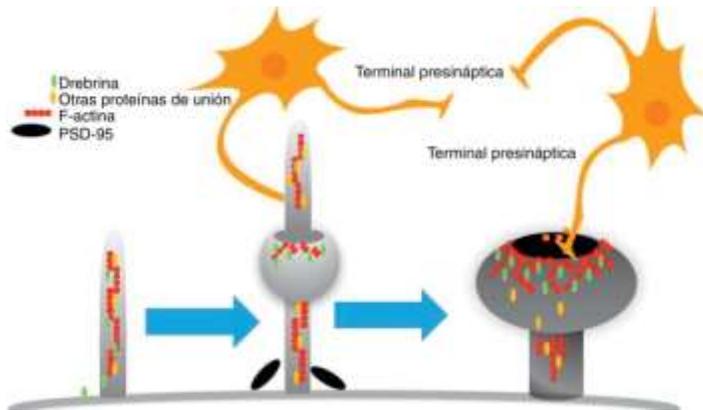


Figura 6. Esquema que muestra el proceso para la plasticidad sináptica en espinas dendríticas. La actina cambia hacia f-actina, después de que una espina delgada entra en contacto con una terminal axónica. La molécula de actina se acumula en la cabeza de la espina. Se produce un complejo drebrina-actina indispensable para la maduración de las espinas. (Modificado de Soria Fregozo y Pérez Vega 2012).

En algunas enfermedades neurológicas humanas, como el estrés crónico, se ha observado la remodelación en la morfología dendrítica, que se caracteriza por la reducción en el tamaño y longitud del árbol dendrítico (Valencia et al., 2018). Así mismo, el cambio en número, tamaño y forma de las espinas dendríticas es importante para la plasticidad sináptica, importantes para el aprendizaje y la memoria (Qiao et al. 2016). Estos cambios en la morfología neuronal se deben al aumento o disminución en el número de contactos sinápticos, y pueden ser a largo o corto plazo, degenerativos o protectores (Qiao et al., 2016).

1.9 El olfato y los bulbos olfatorios

El olfato es un sentido sensorial y químico que nos permite distinguir moléculas volátiles u odoríferas que se encuentran dispersas en el aire y dicho proceso se lleva a cabo en los bulbos olfatorios (BO) (Barros y Claro, 2017). Los BO son extensiones bilaterales del telencéfalo rostral, los cuales, se encuentran organizados como glomérulos individuales, y se consideran un sistema único y dinámico (Fuentes et al., 2011; Morales-Medina et al., 2017a). La acción de los BO es transmitir actividad nerviosa desde los receptores olfatorios a los centros olfativos superiores involucrados en las conductas motivadas, y mantienen conexión con diversas áreas mesocorticales y subcorticales (Fig.7) (Cain, 1974; Morales-Medina et al., 2017a).

Los mamíferos cuentan con dos sistemas olfatorios que les permiten recibir señales químicas del ambiente: el sistema olfatorio principal y el sistema olfatorio accesorio o vomeronasal (Fuentes et al., 2011). El sistema olfatorio accesorio, posee receptores que se encuentran en el órgano vomeronasal, y envían proyecciones al BO accesorio, y a partir de allí viaja a diferentes regiones del SNC (Barros y Claro, 2017). El sistema olfatorio principal se encuentra constituido por receptores olfatorios que están localizados en el epitelio olfativo. Estos envían fibras nerviosas al BO en donde se realiza el primer cambio neuronal, y proyectan a la corteza cerebral y al sistema límbico (Fuentes et al., 2011). La elaboración de las respuestas en los BO es modulada por diferentes interneuronas GABA y a través de proyecciones centrífugas recibidas desde centros nerviosos superiores (Gracia, 2008). Las proyecciones centrífugas proceden de tres áreas subcorticales: aferencias colinérgicas y GABA procedentes del septo-banda diagonal a las serotoninérgicas procedentes del rafe y a las noradrenérgicas procedentes del locus coeruleus (Gracia, 2008).

Existen alteraciones sensoriales como el procesamiento auditivo, visual y olfativo en pacientes con trastornos del estado de ánimo (Hasegawa et al., 2022). Los pacientes con TDM muestran una deficiencia en su capacidad para identificar olores (Morales-Medina et al., 2017b). Además, muestran disminución en el volumen del BO y conectividad funcional aberrante entre regiones cerebrales que ayudan al procesamiento olfativo (Hasegawa et al., 2022). Por lo anterior, la extracción de los BO en roedores se ha utilizado como de comportamiento similar a la depresión.

1.10 Bulbectomía olfatoria

Los modelos animales han sido empleados en la investigación para extrapolar la anatomía y fisiología humana, y con ello la búsqueda de conocimientos científicos y médicos (Robinson et al., 2019). Existen diferentes modelos animales de depresión que ayudan a comprender la etiología de la enfermedad y buscar nuevos blancos terapéuticos para un mejor tratamiento (Matthews et al., 2005). Se han desarrollado numerosos modelos animales que permiten estudiar los síntomas del TDM, así como alteraciones en el comportamiento (anhedonia, disminución del apetito sexual, alteraciones del sueño y del apetito) (Cain, 1974; Song y Leonard, 2005).

La bulbectomía olfatoria (OBX) en roedores consiste en la extracción bilateral de los BO (Cassano y Argibay, 2009). La OBX ha sido considerada como un modelo animal de depresión puesto que, la extirpación de los BO genera cambios funcionales del SNC. Se han encontrado cambios conductuales como irritabilidad, hiperactividad y déficits de memoria similar a pacientes con TDM (Cain, 1974; Kelly et al., 1997). La OBX también induce alteraciones en el metabolismo de neurotransmisores noradrenérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, GABAérgicos y glutamatérgico en áreas del SNC como la CPF (Kelly et al., 1997). También, se han encontrado cambios en el sistema inmune, como la desregulación de interleucinas presentes en procesos inflamatorios (Song y Leonard, 2005), y alteraciones endocrinas relacionadas al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) con aumento en los niveles de corticosterona (Radley et al., 2004).

El modelo de la OBX produce cambios importantes como consecuencia de la degeneración anterógrada y retrograda en neuronas de áreas relacionadas con los BO como son la amígdala, el hipocampo y la CPF que forman parte del sistema límbico-cognitivo (Song y Leonard, 2005). Como consecuencia, hay alteraciones en la plasticidad sináptica en los brotes neuronales, en la morfología de las espinas dendríticas y pérdida de la inervación en general. El modelo de la OBX ha mostrado revertir los síntomas de la depresión después del tratamiento crónico con antidepresivos (Kelly et al., 1997; Cassano y Argibay, 2009). Estos cambios que presentan las ratas después de la OBX son similares a los que se observan en pacientes con TDM, por lo cual se ha considerado un modelo de depresión y no solo un medio para probar antidepresivos (Kelly et al., 1997).

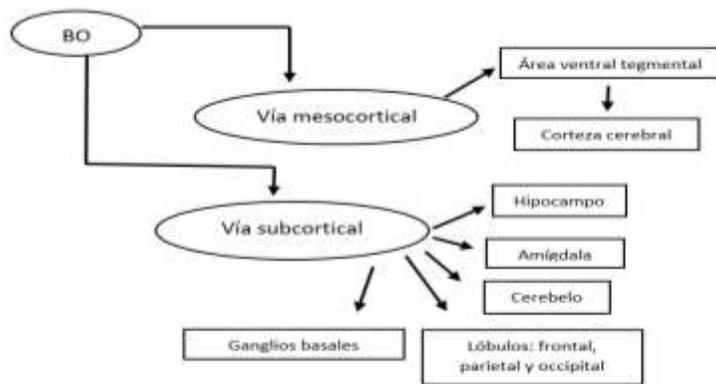


Figura 7. La ablación de los BO irrumpe conexiones eferentes con áreas mesocorticales y subcorticales. La vía mesocortical es una de las principales vías dopaminérgicas esencial en la función cognitiva. La vía subcortical

involucra regiones en donde se llevan a cabo funciones complejas como la memoria, emociones, placer y producción de hormonas. Actúa como centro de información del SNC, ya que modulan información que va hacia diferentes partes del SNC (Kelly et al., 1997).

II. ANTECEDENTES

2.1 Antecedentes clínicos

Se han realizado estudios conductuales, electrofisiológicos y neuromorfológicos para comprender la etiología de la depresión, sin embargo, todavía hay muchas áreas de conocimiento por comprender. Díaz-Villa y González-González (2012) indican que los pacientes con TDM tienen diferencias en el tamaño de diferentes estructuras del SNC, como hipocampo, amígdala y CPF. En un estudio realizado en hombres y mujeres con TDM se encontró reducción en el volumen del hipocampo, sin embargo, la reducción fue mayor en el hipocampo izquierdo en comparación al derecho (Campbell et al., 2004 citado en Díaz-Villa y González-González, 2012). Además, cambios en el metabolismo y en el tamaño de neuronas. También se observa que pacientes con TDM presentan reordenamientos neuronales en esas mismas regiones (hipocampo, amígdala y CPF) (Rajkowska et al., 1999; Stockmeier et al., 2004; Cotter et al., 2005; Hercher et al., 2009 citados en Morales-Medina et al., 2013B). El eje límbico-cortical participa en procesos cognitivos influenciados por estrés crónico. Por lo tanto, la CPF, HD y BLA son regiones implicadas en la regulación de los aspectos afectivos y conductuales del TDM (Garret y Wellman, 2009).

2.2 El estrés crónico modifica la morfología neuronal en la CPF

Cook y Wellman (2004) realizaron un estudio sobre los efectos del estrés de restricción por inmovilización diaria sobre la neuromorfología en la CPF. El objetivo fue determinar si existen cambios en la morfología de células piramidales de las capas II y III en respuesta al estrés crónico. Para la metodología se utilizaron ratas macho expuestas a 3 h de estrés de restricción diaria durante 3 semanas. Usando la técnica de Cox-Golgi. En este estudio se demostró

reducción significativa en el número y longitud de ramas dendríticas apicales en animales estresados (Fig. 8). Lo que sugirió cambios funcionales en la CPF (Cook y Wellman, 2004).

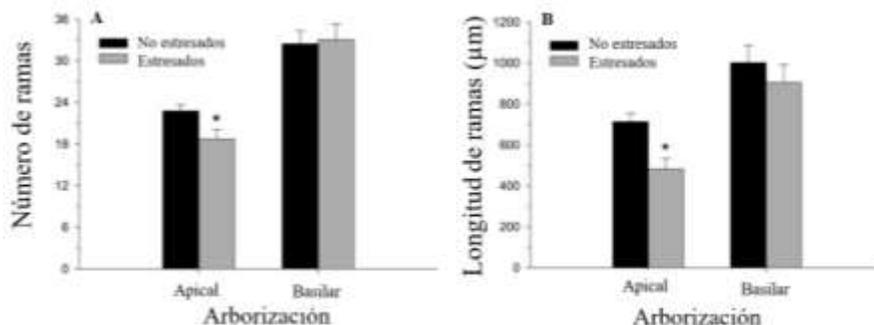


Figura 8. El estrés reduce el número de ramificaciones (A) y longitud dendrítica (B) en CPF capa II-III en ratas macho. (Modificado de Cook y Wellman, 2004).

2.3 Estrés crónico y morfología de dendritas en la CPF en ratas macho y hembras

Garrett y Wellman (2009) realizaron un estudio en donde examinaron las diferencias sexuales sobre los efectos del estrés crónico en la morfología dendrítica en la CPF. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos del estrés crónico sobre la morfología dendrítica en la CPF, las diferencias de sexo y la dependencia de estrógenos. En el experimento 1, sometieron a ratas macho y hembra a 3 horas de inmovilización diaria durante una semana. Los tejidos cerebrales fueron procesados mediante la tinción de Golgi-Cox y se obtuvieron neuronas de las capas II y III. Los resultados mostraron que hubo reducción del número y longitud de las ramas dendríticas apicales en ratas macho (Fig. 9A), mientras que en las hembras hubo aumento de la longitud dendrítica apical como respuesta al estrés (Fig. 9B). Posteriormente, evaluaron si el estradiol es capaz de mediar la hipertrofia que presentaron las dendritas neuronales en ratas como consecuencia del estrés. En este experimento utilizaron ratas hembra OVX y OVX simuladas, las cuales fueron tratadas con o sin remplazo de estradiol. Los cerebros fueron procesados con tinción de Golgi-Cox. Los resultados indican que ratas OVX simuladas y OVX con implantes de estradiol tuvieron aumento en las dendritas apicales por efectos de estrés (Fig. 9C). Mientras que en ratas OVX sin remplazo de estradiol hubo interrupción en el aumento de dendritas apicales por el estrés (Fig. 9D). Esto llevo a la conclusión de que el aumento dendrítico apical en ratas hembra es dependiente del estradiol (Garrett y Wellman, 2009a).

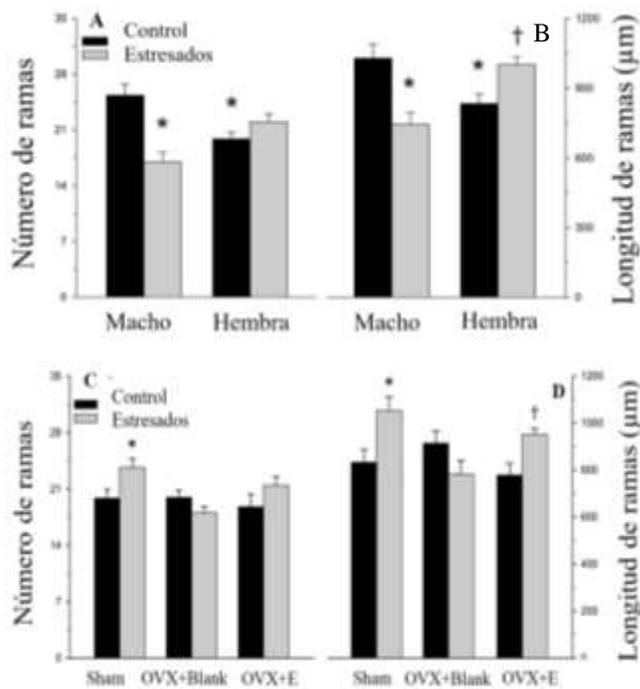


Figura 9. El estrés crónico modifica la morfología dendrítica neuronal en la CPF de ratas macho y hembras. Las ratas macho sometidas a 3 hora de inmovilización diaria durante una semana presentan reducción de la arborización dendrítica (A) e hipertrofia la morfología dendrítica en hembras (B). Las ratas OVX simuladas y OVX con implantes de estradiol presentan hipertrofia dendrítica apical como respuesta al estrés (C), mientras que las ratas OVX sin remplazo de estradiol muestran mediación en el aumento dendrítico apical (D). (Modificado de Garrett y Wellman, 2009).

2.4 Tratamiento agudo con CORT y remodelación dendrítica en CPF y BLA

Kim et al., (2014) estudiaron los cambios que produce el tratamiento agudo con CORT en neuronas de regiones que se encargan de la regulación de comportamientos de ansiedad como la CPF y BLA. Para su estudio utilizaron ratas macho de la cepa Sprague dawley (SD) con 6 semanas de vida. Se hicieron 8 grupos asignados aleatoriamente y sometidos a diferentes tratamientos: 3 d-vehículo, 3 d-CORT, 6 d-vehículo, 6 d-CORT, 12 d-vehículo, 12 d-CORT, 20 d-vehículo y 20 d-CORT. Los resultados mostraron que el tratamiento agudo con CORT induce remodelación dendrítica neuronal en la BLA y CPF a diferentes cursos de tiempo (Fig. 10). Estos resultados indican que los episodios de ansiedad inducidos por el estrés son consecuencia de la remodelación dendrítica tanto de la BLA como la CPF (Kim et al., 2014).

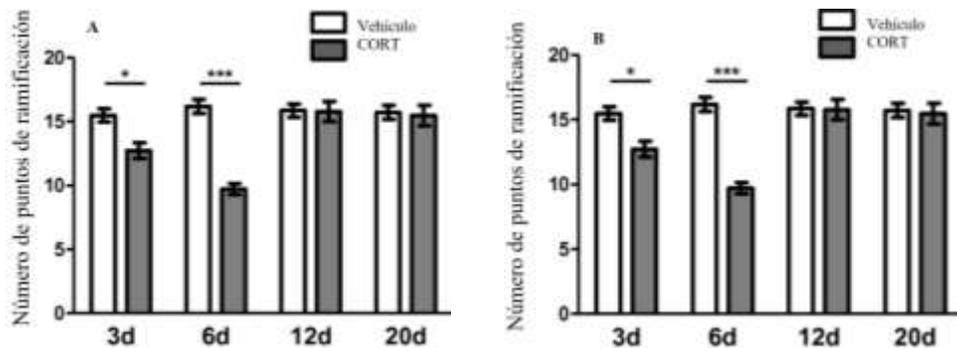


Figura 10. Atrofia de la morfología dendrítica neuronal en la BLA y CPF. El tratamiento con CORT indujo reducción de la arborización dendrítica a los 3 y 6 días posteriores al tratamiento en la CPF (A). En cuanto a la BLA, las neuronas presentaron aumento de la arborización dendrítica a los 12 días después del tratamiento agudo con CORT (B). (Modificado de Kim et al., 2014).

2.5 Estrés repetido y morfología de espinas dendríticas de la CPF en ratas macho

El estrés repetido modifica la población de espinas, mostrando disminución de espinas grandes y aumento en las espinas pequeñas. El estrés repetido redujo la densidad de espinas en las células piramidales de la capa II y III (Fig. 11). Estos cambios sugieren que las espinas dendríticas tienen problemas de maduración y estabilización después del estrés repetido (Radley et al., 2008).

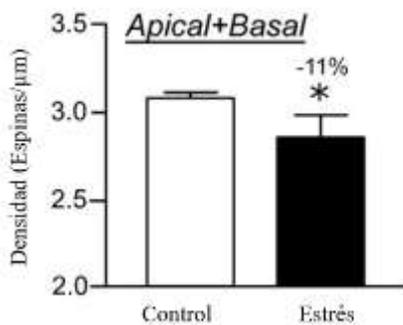


Figura 11. El estrés repetido reduce la densidad de espinas dendríticas. El estrés repetido genera disminución de la densidad de espinas dendríticas en la CPF de las capas II y III en ratas macho SD. (Modificado de Radley et al., 2008).

2.6 Glucocorticoides y neuromorfología del hipocampo

Woolley et al. (1990) realizaron un estudio para demostrar que la exposición crónica a glucocorticoides altera la morfología dendrítica de células neuronales en el hipocampo de ratas adultas. Los resultados muestran reducción en el orden de ramificación y LDT apical en neuronas piramidales CA3 (Fig. 12). Para la dendritas basales CA3, la exposición prolongada a CORT no causó efectos sobre la morfología dendrítica. Así mismo, las células piramidales en

HD CA1 no presentaron cambios morfológicos significativos entre los animales tratados con CORT en comparación al grupo control. Estos resultados podrían ser indicativos de alteraciones estructurales que ocurren en condiciones fisiológicas en las que los niveles de corticosterona se encuentran elevados (Woolley et al., 1990).

Longitud dendrítica total (LDT) presente en una sección de 100 μm de espesor

Los valores representados como la media \pm el error estándar de la media, n se refiere al número de animales en cada grupo de tratamiento. Los datos se analizaron con un análisis de varianza unidireccional seguido de comparaciones post hoc de Tukey HSD.

Región neuronal	No inyectado (μm)	Sham (μm)	CORT (μm)
Células piramidales CA3 Dendritas apicales	1435.6 \pm 92.8 (n = 6)	1607.4 \pm 228.0 (n = 4)	908.8 \pm 77.7* (n = 5)
Células piramidales CA3 Dendritas basales	1069.2 \pm 67.7 (n = 6)	1265.6 \pm 226.6 (n = 4)	1062.6 \pm 29.9 (n = 5)
Células piramidales CA1 Dendritas apicales	2038.3 \pm 162.9 (n = 4)	2784.2 \pm 289.5 (n = 4)	2311.9 \pm 108.3 (n = 4)
Células piramidales CA1 Dendritas basales	1380.0 \pm 154.6 (n = 4)	1667.6 \pm 64.1 (n = 4)	1647.4 \pm 67.0 (n = 4)
Células granulares del giro dentado	1043.5 \pm 76.4 (n = 4)	1276.7 \pm 81.4 (n = 4)	1279.8 \pm 96.8 (n = 5)

* Diferencias significativas de los no inyectados y Sham (P<0.05).

Figura 12. La exposición crónica a corticosterona altera la morfología dendrítica de células piramidales en HD CA3. (Modificado de Woolley et al., 1990).

2.7 Estrés y cambios morfológicos en dendríticas neuronales del HD CA3

El HD es vulnerable a acciones dañinas tales como, la estimulación repetitiva y la exposición constante a glucocorticoides exógenos. Watanabe et al. (1992) investigaron los efectos del estrés por restricción crónica en neuronas piramidales CA3. Para este estudio manejaron ratas macho de la cepa SD macho de 250-280 g de peso corporal, los animales se sometieron a estrés por restricción en mallas de alambre, durante 6 horas diarias, por tres semanas. Los resultados mostraron que las neuronas basales del HDCA3 no mostraron cambios morfológicos como efecto al estrés crónico (Fig. 13). Sin embargo, el estrés redujo el aumento de peso (Watanabe et al., 1992).

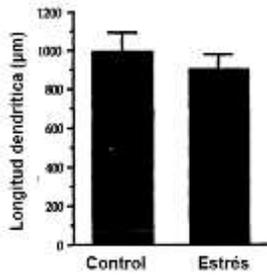


Figura 13. El estrés por restricción crónica no induce reordenamientos en la morfología de neuronas piramidales en HDCA3. (Modificado de Watanabe et al., 1992).

2.8 CORT y reorganización morfológica neuronal en HDCA1

Los niveles elevados de corticosteroides se han asociado a patologías como el TDM. Por lo tanto, la administración crónica de CORT en roedores se ha propuesto como un modelo animal de estrés induciendo comportamientos similares a la depresión (Gregus et al., 2005 citado en Morales-Medina et al., 2009). En el estudio de Morales-Medina et al., 2009 se propusieron evaluar los efectos de 3 semanas de tratamiento con CORT sobre la morfología dendrítica neuronal en BLA y el subcampo CA1 del HD en ratas adultas. El análisis morfológico mostró que la administración crónica de CORT provoca hipotrofia morfológica de neuronas piramidales en hipocampo CA1 (Fig. 14a). Este tratamiento no mostró efectos sobre la morfología dendrítica neuronal en BLA (Fig. 14b) (Morales-Medina et al., 2009).

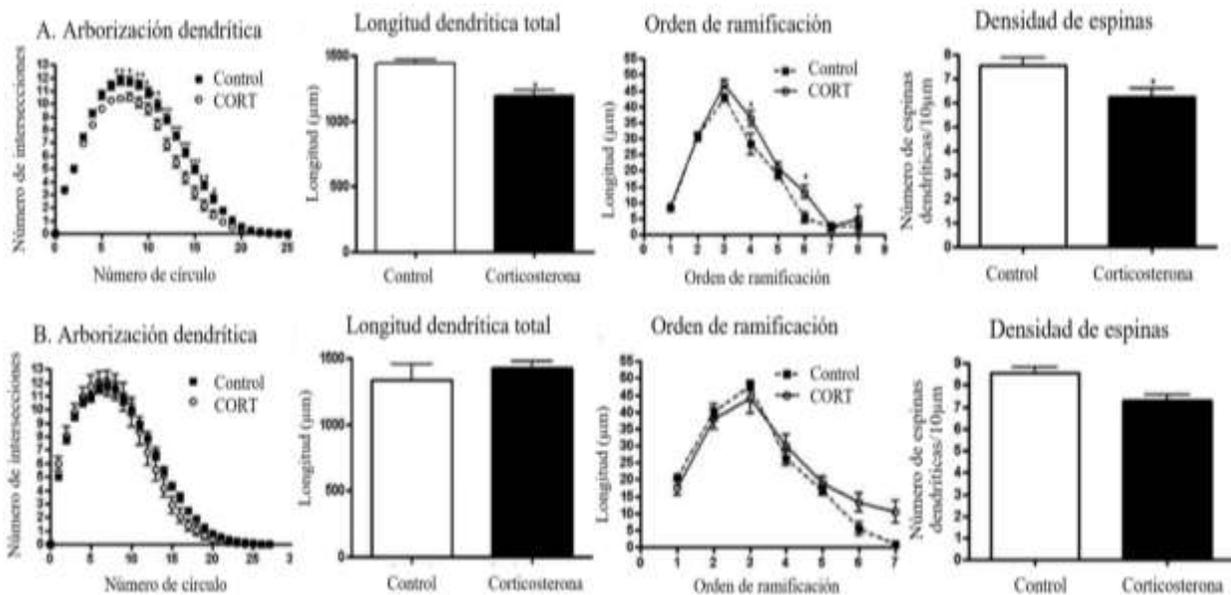


Figura 14. Los animales tratados con CORT presentaron hipotrofia de la morfología dendrítica de células piramidales en HD CA1 (a). Mientras que el tratamiento no indujo cambios morfológicos en neuronas piramidales de BLA (b). (Modificado de Morales-Medina et al., 2009).

2.9 CORT e hipertrofia la morfología neuronal en la BLA

La BLA es una región con alta concentración de receptores a glucocorticoides. Mitra y Sapolsky (2008) plantearon la hipótesis de que estrés induce la producción de niveles altos de glucocorticoides, los cuales pueden afectar a las neuronas amigdaloides. Para probar esta hipótesis utilizaron ratas tratadas de forma aguda (1 sola dosis) y crónica (10 dosis diarias) con CORT. Posteriormente, evaluaron la conducta y los cambios morfológicos a los 12 días después del tratamiento entre ambos grupos. Los resultados mostraron que el tratamiento agudo induce hipertrofia dendrítica en neuronas de la BLA (Fig. 15). Por lo tanto, concluyeron que la plasticidad neuronal de la BLA es demasiado sensible ante los efectos del estrés (Mitra y Sapolsky, 2008).

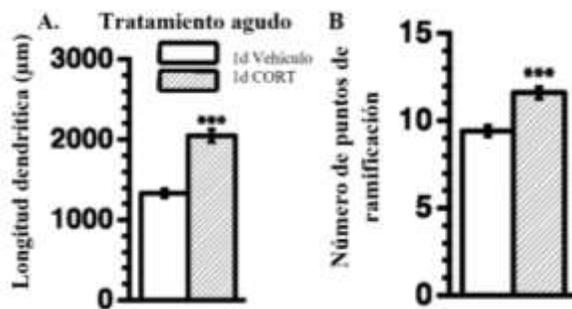


Figura 15. El tratamiento agudo con CORT hipertrofia la BLA. El tratamiento de una sola dosis con CORT induce hipertrofia de la morfología dendrítica neuronal en la BLA a los 12 posteriores al tratamiento. (Modificado de Mitra y Sapolsky, 2008)

2.10 Estrés por restricción crónica y densidad de espinas en la BLA

La BLA está caracterizada por ser una región de almacenamiento de recuerdos tanto atemorizante como estresante (Mitra et al., 2005). Mitra et al. (2005) investigaron los efectos del estrés por inmovilización crónica (CIS) y aguda en la densidad de espinas dendríticas en la BLA de ratas macho de la cepa Wistar. Los resultados indicaron que el CIS induce aumento de la densidad de espinas en neuronas de la BLA (Fig. 16). Aunque, los resultados para estrés por inmovilización aguda no presentaron cambios significativos sobre la densidad y arborización dendrítica en BLA. Les atribuyen a estos resultados, que las experiencias estresantes pueden conducir a la formación de nuevas espinas dendríticas en la BLA (Mitra et al., 2005).

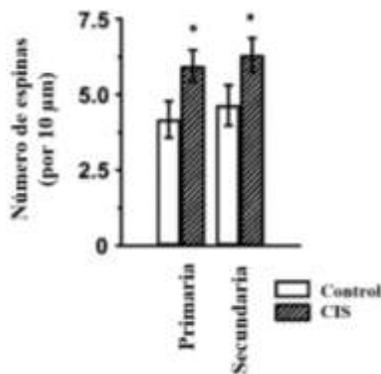


Figura 16. Efectos del estrés por inmovilización crónica (CIS) sobre las espinas dendríticas. La densidad de espinas fue calculada como el promedio del número de espinas por cada 10 μm de longitud dendrítica. Los resultados muestran aumento en el número de espinas dendríticas de ramas primarias y secundarias en ratas macho de la cepa Wistar sometidas a estrés por inmovilización crónica (CIS) en comparación al grupo control. (Modificado de Mitra et al., 2005)

2.11 OBX y atrofia la morfología dendrítica neuronal en ratas macho

El modelo de ratas con OBX se propone como un modelo animal de depresión (Kelly et al., 1997). De acuerdo con Kelly et al. (1997), este modelo presenta cambios conductuales después de la cirugía OBX. También se han observado reordenamientos neuronales (reducción de la arborización y densidad de espinas en regiones del hipocampo) inducidos por la OBX (Morales-Medina et al., 2013b; Valencia & Colín, 2017). Morales-Medina (2013a) evaluaron los efectos de la OBX sobre la arborización dendrítica neuronal y densidad de espinas en regiones del SNC que se encuentran involucradas en el control de ciclo circadiano, la emoción y procesos de memoria como la CPF, el núcleo accumbens (NAcc) y la corteza entorrinal (CE) en ratas macho SD. Los resultados para este estudio indican una disminución del orden dendrítico y LDT en la CE, sin cambios en la densidad de espinas (Fig. 17 A, B, y C) ni en la morfología dendrítica neuronal en la CPF (Fig. 17 D, E y F). En el modelo de ratas con OBX aún no se han evaluado regiones clave del SNC que pudieran estar asociadas a los trastornos depresivos. Morales-Medina (2013b) evaluaron la conducta y plasticidad hipocampal de subcampo CA1, región que está conectada con los BO y se encarga del procesamiento de emociones, y encontraron alteraciones conductuales características de sujetos deprimidos y disminución del orden de ramificación, sin cambios en la LDT (17 G y H) ni en la densidad de espinas (17 I).

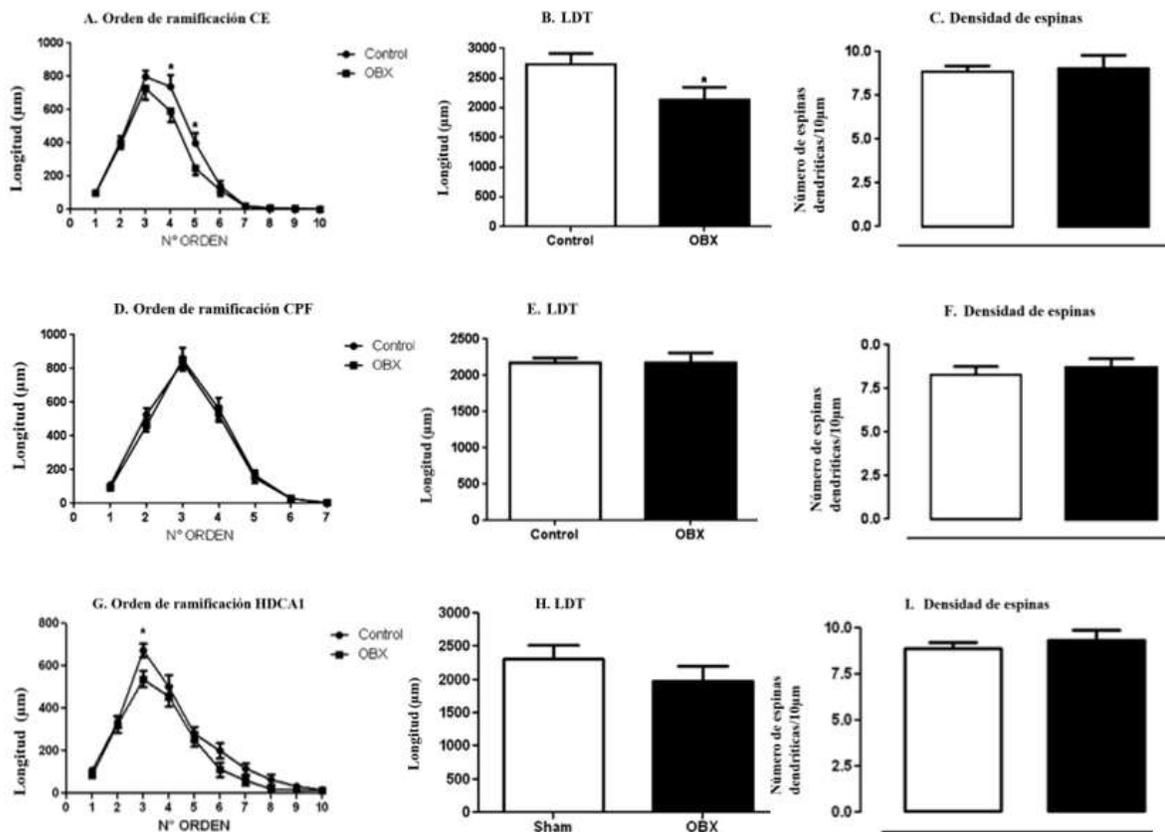


Figura 17. La OBX atrofia la morfología dendrítica neuronal en la CE y el HD CA1. El orden dendrítico (A) y LDT (B) disminuyen como efecto de la OBX en ratas macho de la cepa SD en la CE, sin cambios aparentes en la densidad de espinas dendríticas (C). La CPF de ratas macho con OBX no presentó cambios significativos en comparación al grupo control en el orden dendrítico (D), LDT (E) y densidad de espinas dendríticas (F). El orden de ramificación disminuyó en el HD CA1 (G), sin cambios en la LDT (H) y densidad de espinas (I) en células neuronales del HD CA1 como consecuencia a la OBX. (Modificado de Morales-Medina et al., 2013 A y B).

Los antecedentes tanto clínicos como preclínicos apuntan a la misma dirección. Las experiencias emocionales traumáticas afectan la integridad estructural y funcional de la CPF que conllevan al padecimiento del TDM (Pascual et al., 2003). Considerando la estrecha relación entre los cambios neuromorfológicos en sujetos con depresión y modelos animales de comportamiento similar a la depresión, los datos son escasos con respecto a los cambios neuromorfológicos que se generan en la CPF en animales OBX.

III. JUSTIFICACIÓN

El TDM es un problema de salud pública con alta prevalencia a nivel mundial (Pérez-Padilla et al., 2017). Las estadísticas para este trastorno van del 8 al 12%, afectando más a mujeres que a hombres en algún momento de su vida (Vega-Rivera et al., 2012). Además, el TDM reduce la calidad de vida de quien lo padece y en condiciones graves conduce al suicidio (Morales-Medina et al., 2017a). Por lo anterior, hay una elevada utilización de los servicios de salud y descenso de la productividad laboral (Secretaría de Salud, 2016). La CPF, el HD y la BLA son estructuras implicadas en conductas emocionales y cognitivas (Silva, 2005b). Los sujetos con TDM presentan alteraciones en el funcionamiento de esta estructura, atrofia y pérdida neuronal (Vega-Rivera et al., 2012). Las ratas macho con OBX han mostrado imitar conductas depresivas y atrofia de algunas regiones como el hipocampo (Morales-Medina et al., 2013b). Por lo anterior, es útil evaluar los efectos de la OBX sobre la morfología dendrítica y, espinas dendríticas neuronales en la CPF capa III y V, HD CA1 y CA3 y, BLA en ratas macho y hembra OVX. Esto nos permitirá conocer los cambios neuronales que presentan estas regiones durante el TDM. Puesto que las mujeres son la población mayormente predispuesta a padecer TDM en comparación con los hombres y son pocos los estudios que se han realizado en modelos animales utilizando hembras.

IV. HIPÓTESIS

- En ratas macho, la OBX induce hipotrofia en la CPF e HD e hipertrofia dendrítica neuronal en la BLA
- En ratas hembra, la OBX induce hipertrofia dendrítica neuronal en la CPF, HD y BLA

V. OBJETIVOS

5.1 General

Evaluar los efectos de la OBX en la morfología dendrítica neuronal del sistema límbico-cortical en ratas de la cepa Wistar (macho intacto y hembra ovariectomizada).

5.2 Específicos

En III y V en CPF, HD CA1 y CA3, y BLA de ratas con OBX macho y hembra OVX:

- Evaluar la longitud dendrítica total.
- Analizar el orden dendrítico.
- Determinar la arborización dendrítica.
- Examinar la densidad de espinas dendríticas.
- Estudiar la tipificación de espinas dendríticas.

VI. METODOLOGÍA

6.1 Diseño experimental

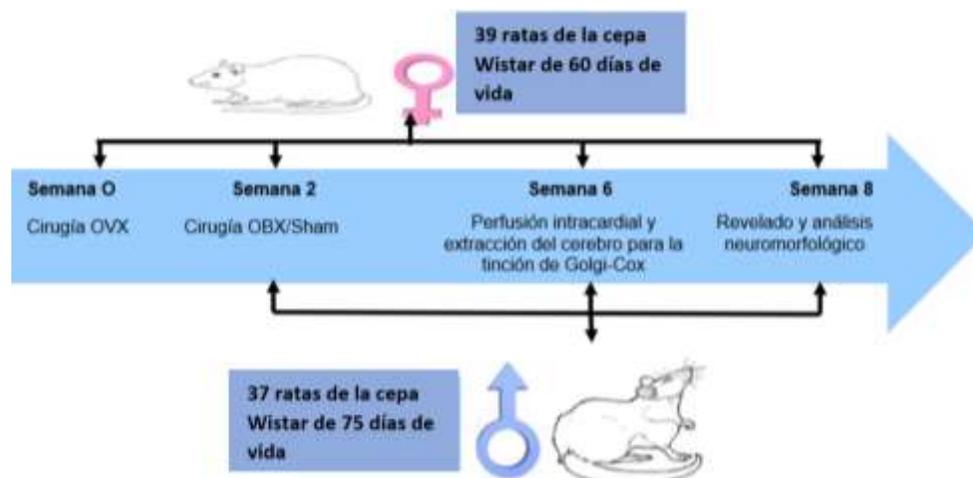


Figura 18. Diseño experimental. En la semana 0 las ratas hembra fueron OVX, y se dejaron durante dos semanas en recuperación. En la semana 2, se realizaron las cirugías OBX/Sham tanto a machos como hembras, los animales se dejaron en recuperación durante 4 semanas. Posteriormente, en la semana 6, las ratas fueron perfundidas intracardialmente, se extrajo el tejido cerebral y se almacenó en oscuridad con solución de Golgi-Cox durante dos semanas. En la semana 8, los tejidos cerebrales fueron cortados, y revelados para su posterior análisis.

6.2 Animales de experimentación

Se utilizaron 76 ratas de la cepa Wistar de 60 días de edad (39 ratas hembra jóvenes y 37 machos) del bioterio del Centro de Investigación en Reproducción Animal CINVESTAV-UATx (Fig.18). Los cuales, se mantuvieron en grupos de 4 animales, a temperaturas controladas de $22^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$, con ciclos de luz-oscuridad (12-12h). Las ratas mantenían acceso libre a alimento y agua.

Las ratas hembra fueron OVX a los 60 días de vida. El cuidado y el manejo de los animales para los procedimientos experimentales fue aprobado por el comité de cuidado animal del Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA) del CINVESTAV-UATx y de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y la Guía del Instituto Nacional de Salud para el Cuidado y uso de Animales de Laboratorio (Morales-Medina et al., 2013).

6.3 Cirugía OVX

Las ratas fueron anestesiadas con coctel de Ketamina/Xilazina vía intraperitoneal (0.75 ml de Ketamina/0.25 ml de Xilazina en solución de Hartmann Pisa, con una dosis: 0.125 ml/20 g de peso, i.p.). Se realizó la OVX bilateral a nivel dorsal. Se extirparon los ovarios y el tejido adiposo y se procedió a realizar la sutura de músculo y piel (Leiva-Revilla et al., 2014). Los animales se dejaron 15 días de recuperación postcirugía (Fig. 19).

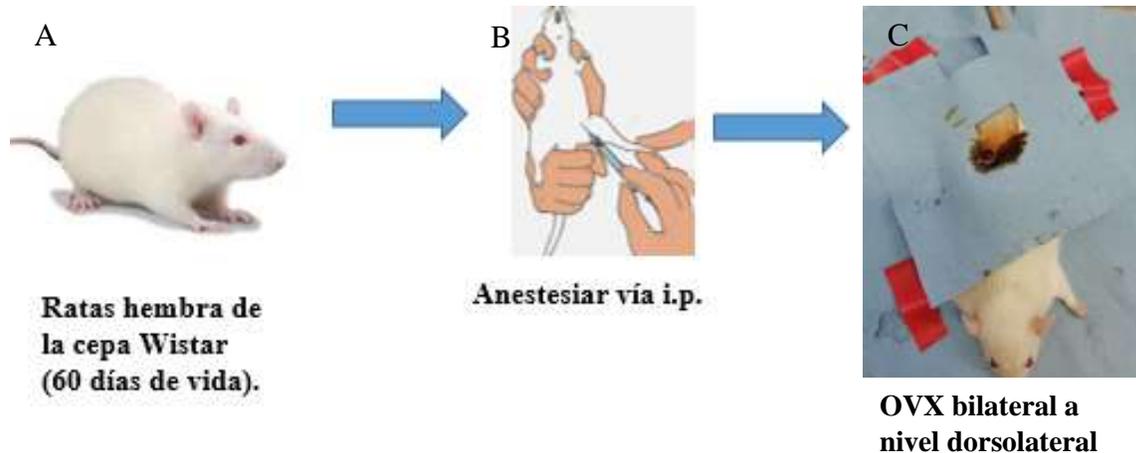


Figura 19. La OVX fue realizada en ratas hembra con 60 días de vida (A). Las ratas fueron anestesiadas (B). Posteriormente, se hizo una incisión dorsolateral la cual permitió la identificación de los ovarios para su eliminación (C).

6.4 Cirugía OBX

Los animales fueron anestesiados con un coctel de anestésicos (0.75 ml de Ketamina/0.25 ml de Xilazina en solución de Hartmann Pisa, con una dosis: 0.125 ml/20 g de peso, i.p.). Se realizó una incisión a nivel del lóbulo frontal sobre la línea media que cubre los BO (1 cm). Se abrió una ventana craneal de aproximadamente 2 mm de diámetro. Ocho mm anteriores a bregma y 2 mm de la línea media del hueso frontal, donde se cubre el BO de cada hemisferio (Galindo, 2019). Los BO fueron aspirados mediante un sistema al vacío, que consiste en una cánula unida a una bomba de agua (jeringa de 5 mL con agua destilada) teniendo cuidado de no causar daño a la CPF. La prevención de la pérdida de sangre de los orificios se logró llenándolos de esponja hemostática. Se realizó una sutura de forma continua. Posteriormente, se administró por vía subcutánea 4 mL de solución Hartmann (solución isotónica). Los animales se colocaron bajo una lámpara de luz roja sobre una caja limpia para la recuperación de la anestesia. Al

despertar de la anestesia fueron trasladadas al bioterio. Las ratas Sham fueron operadas de manera similar, excepto que los BO quedaron intactos. Descrito detalladamente en Kelly et al., 1997; Van Riezen y Leonard, 1990. Los animales se dejaron en recuperación durante cuatro semanas postcirugía (Fig. 20).

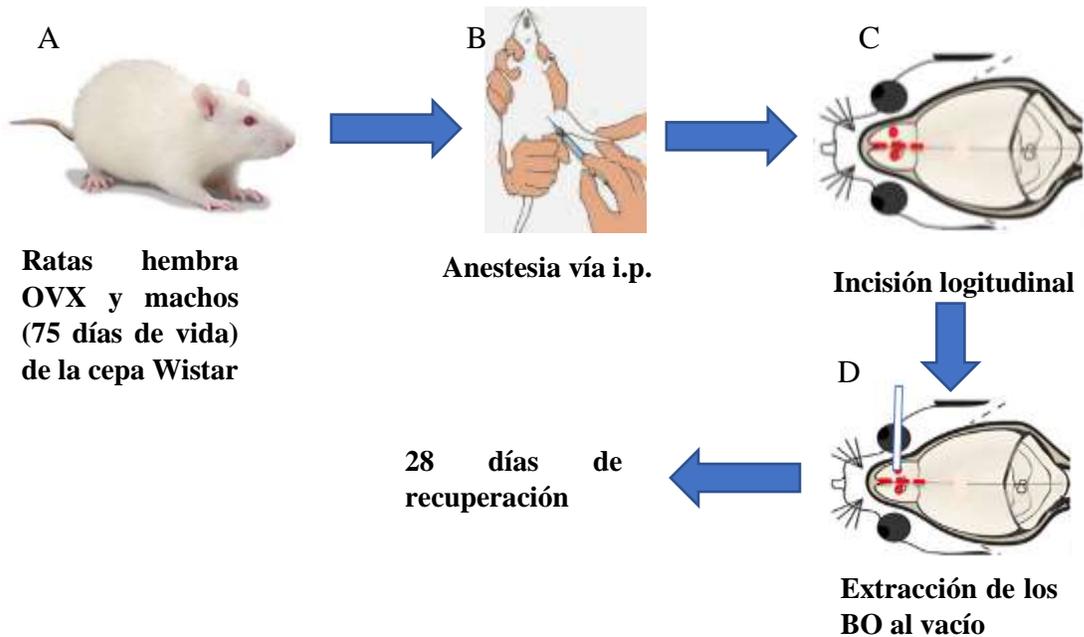


Figura 20. La cirugía OBX/Sham. La cirugía se realizó en ratas macho (14 OBX y 13 Sham) y hembra de 75 días de vida (19 OBX y 20 Sham) (A). Las cuales fueron anestesiadas vía i.p. (B), y se realizó una incisión a nivel del lóbulo frontal para dejar al descubierto los BO (C). Los BO fueron extirpados por medio de un sistema al vacío (D).

6.5 Criterios de selección

Criterios de selección de la muestra para las cirugías: hembras de 60 días de vida para la previa realización de OVX y, machos con 75 días de vida para la OBX.

Criterios de selección de tejidos cerebrales: aquellos tejidos cerebrales que no posean BO ni daño en la CPF.

Criterios para la selección de neuronas: que sean células piramidales de las capas III y V de la CPF, CA1 y CA3 del HD y BLA, las cuales deben estar completamente impregnadas y sin truncamientos.

6.6 Criterios de eliminación

Ratas experimentales que fallecieron o enfermaron después de las cirugías (OVX y/u OBX).

6.7 Definición de variables y escala de medición

6.8.1 Variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de escala	de
Edad	Tiempo que ha vivido una persona cualquier ser vivo.	Semanas de nacimiento hasta el momento de las cirugías.	Cuantitativa	Discreta	Semanas	
Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.	Macho/hembra	Cualitativa	Nominal	Macho/hembra	
Peso	Fuerza con que la Tierra atrae a un cuerpo, por acción de la gravedad.	Machos Hembras	Cuantitativa	Continua	g	
OBX	Cirugía para la ablación de los BO.	Presencia/ausencia de los BO.	Cualitativa	Nominal	Ausencia de los BO.	
OVX	Cirugía para extraer ovarios.		Cualitativa	Nominal	Ausencia de ovarios	

Sham	Cirugía simulada	Control		Cualitativa	Nominal	Intactos los BO.
Estradiol	Hormona sexual que interviene en la aparición de los caracteres sexuales			Cualitativa	Nominal	Presencia o ausencia
Variable	Definición conceptual	Definición operacional		Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de escala
Arborización dendrítica	Conjunto de dendritas que surgen de una neurona.	Número de dendritas en el soma	de	Cuantitativa	Discreta	Numérica
Longitud dendrítica	Distancia total de las dendritas que surgen de la neurona.	Longitud dendrítica total		Cuantitativa	Discreta	μm
Orden dendrítico	Longitud de las dendritas radiadas.	Niveles según la longitud dendrítica.	la	Cuantitativa	Discreta	Ordinal
Densidad de espinas dendríticas	Distribución de las espinas a lo largo de las dendritas.	Número de espinas en la dendrita.		Cuantitativa	Discreta	Número de espinas/ μm
Tipificación de espinas dendríticas	Tipo de espinas que se encuentran a lo	Número de los tipos de espinas en la dendrita.	lo	Cuantitativa	Discreta	Porcentaje de espinas

largo de la
dendrita.

6.8 Técnica de Golgi-Cox

A los 28 días poscirugía OBX/Sham, los animales fueron anestesiados nuevamente con coctel de anestésicos Ketamina/Xilazina, y se perfundieron intracardialmente con solución Hartmann. Los tejidos cerebrales fueron extraídos rápidamente, y se almacenaron en condicione de oscuridad en solución de Golgi-Cox ($K_2Cr_2O_7$ 170 mM, $HgCl_2$ 200 mM, $K_2Cr_2O_4$ 200 mM) durante dos semanas. Posteriormente, los tejidos fueron transferidos a solución de sacarosa al 30 % durante 3 días (Espinoza, 2019).

6.9 Revelado

Se realizaron cortes coronales de 200 μm de espesor de la CPF, HD y BLA, mediante el uso de un vibratomo motorizado (Campden Instruments, Loughborough, modelo MA752, Reino Unido). Los tejidos se recogieron en portaobjetos previamente recubiertos con gelatina al 2%, y se colocaron en cámara húmeda. Posteriormente, se realizaron enjuagues con agua destilada (1 min) y se colocaron en hidróxido de amonio (NH_4OH) por 30 min. Enseguida se realizó la inmersión en un fijador de película Kodak (dilución: 1:3) por 30 min, y un último enjuague con agua destilada (1 min). Los portaobjetos fueron tratados en concentraciones crecientes alcohol para deshidratar el tejido: alcohol al 75 % (10 min), alcohol al 90% (10 min) y alcohol al 100% (30 min, repitiendo esta operación 2 veces). Finalmente, se aclararon los tejidos con xileno (15 min), y se cubrieron con medio resinoso (Fig. 21) (Flores et al., 2005; Gibb y Kolb, 1998; Morales-Medina et al., 2013).

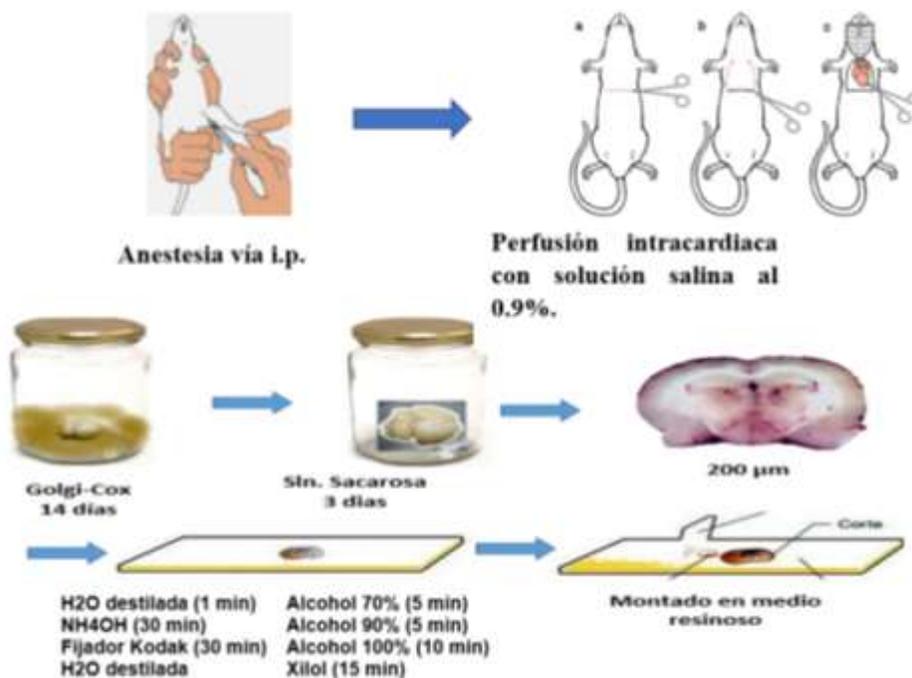


Figura 21. La técnica de Golgi-Cox es un procedimiento histológico que revela la morfología neuronal en tercera dimensión. Una vez extraídos los tejidos son almacenados en oscuridad con solución de Golgi, para posteriormente ser colocados en solución de sacarosa al 30% con la finalidad de tener un tejido con las características necesarias para ser cortado. El tejido se trata con Hidróxido de amonio, fijador Kodak, y finalmente, es deshidratado con concentraciones crecientes de alcohol.

6.10 Análisis neuromorfológico

6.10.1. Arborización dendrítica

Mediante el atlas Paxinos y Watson (1998) se localizaron la capa III y V de la CPF, HD CA1 y CA3, y BLA (Fig. 22), se seleccionaron neuronas piramidales que se encontraron aisladas, bien impregnadas y sin ningún tipo de truncamiento del árbol dendrítico. Se analizaron 5 neuronas por hemisferio cerebral. Las neuronas seleccionadas se dibujaron utilizando una cámara lúcida (Leica DM200, Alemania) con el objetivo 40x para hacer reconstrucciones 2D secuenciales de todo el árbol dendrítico. Posteriormente, se pintaron las dendritas con diferentes colores según el orden de bifurcación (Flores et al., 2015; Kolb et al., 1998).

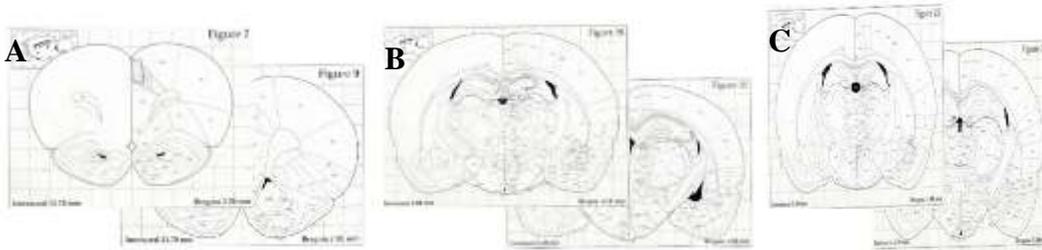


Figura 22. Las regiones para la evaluación de las neuronas se identificarán en la CPF capa III y V figuras 7 a la 9(A), HD CA1 y CA3 figuras 26 a la 32 (B), y BLA figuras de la 25 a la 31 (C), del atlas Paxinos y Watson, 1998.

Los trazados dendríticos se cuantificaron mediante el análisis de Sholl (Sholl, 1953). Utilizando una plantilla transparente con círculos concéntricos equidistantes ($10\ \mu\text{m}$) que fueron centrados sobre los trazados del árbol dendrítico, manteniendo en el centro al soma. Se contó el número de intersecciones dendríticas en los círculos concéntricos para estimar arborización y longitud dendrítica total (Fig. 23) (Cabrera-Pedraza et al., 2017; Morales-Medina et al., 2017a).

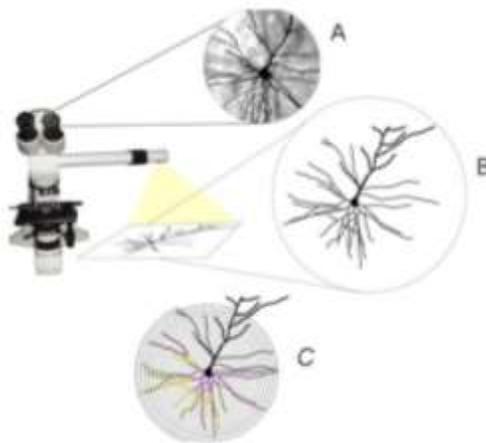


Figura 23. Representación de la obtención de neuronas piramidales en 2D. Se seleccionan las neuronas que se observen completamente impregnadas (A), con ayuda de la cámara lúcida dibujamos la neurona seleccionada (B). Pintamos las dendritas neuronales a diferentes colores, y con la planilla transparente empezaremos el análisis de Sholl (C). (Modificado de Arias, 2015)

6.10.2 Densidad y tipificación de espinas

Las dendritas más distales y/o del último orden con una longitud aproximada de $10\ \mu\text{m}$. Se dibujaron 10 dendritas neuronales (5 por cada hemisferio cerebral), en objetivo de 100x con aceite de inmersión y utilizando un microscopio óptico (Fig. 24) (Leica DM200, Alemania) con cámara lúcida.

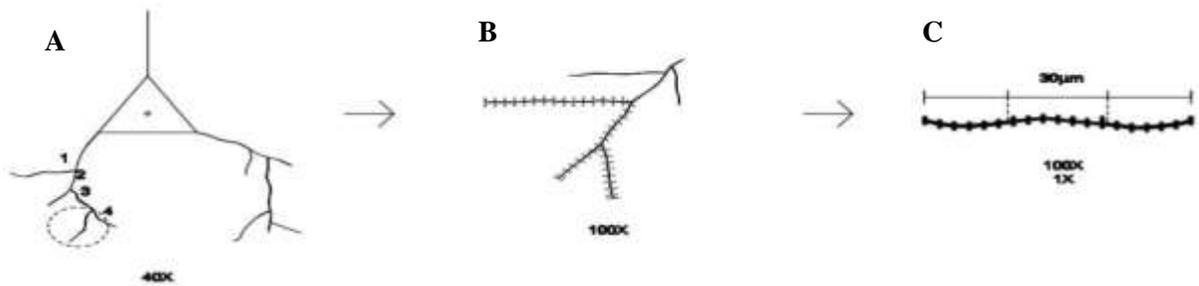


Figura 24. Se seleccionan neuronas piramidales completamente impregnadas y sin truncamiento con el objetivo de 40x (A), de la neurona seleccionada anteriormente se elegirán 3 dendritas distales y/o de ultimo orden enfocando con el objetivo de 100x (B), y finalmente se dibujarán las espinas que posean dichas dendritas para obtener la densidad de espinas dendríticas (C).

Mediante el objetivo de 100X en aceite de inmersión se realizó la tipificación de espinas de acuerdo con su tipo de forma. A través de un contador de células, se clasificaron de forma contigua las espinas de la dendrita de último orden hasta contar un total de 100 espinas. Posteriormente, se obtuvo el promedio de la proporción de cada tipo de espina dendrítica (Fig. 25) (Brusco et al., 2010).

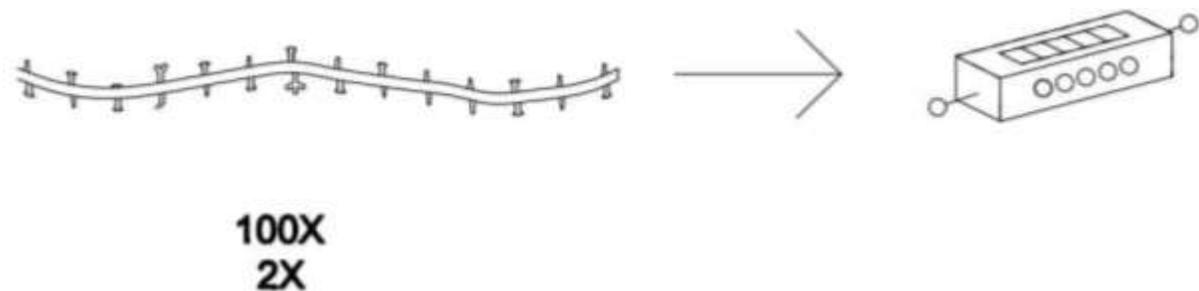


Figura 25. Las espinas dendríticas se clasificarán según su tipo: delgadas, hongo, gruesas, ramificadas y sin clasificar.

6.10.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software Graphpad 7.0. Los datos son expresados como media \pm error estándar. La arborización, el orden dendrítico y la tipificación de espinas se realizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías seguido por la prueba post-hoc Bonferroni. La longitud dendrítica total (LDT) y la densidad de espinas fueron analizadas mediante una t de Student. El valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

VII. RESULTADOS

La OBX en ratas se ha propuesto como un modelo animal de depresión que se caracteriza por presentar síntomas similares a pacientes con TDM (Kelly et al., 1997). Así también, en el modelo de la OBX se ha encontrado atrofia de células piramidales en HD CA1, una región que mantiene estrecha conexión con BLA y CPF. En el presente trabajo evaluamos los efectos de la OBX en neuronas piramidales de la CPF capa III y V, HD CA1 y CA3 y, BLA de ratas macho y hembras OVX. El proceso se realizó mediante la tinción de Golgi-Cox, una técnica histoquímica que permite ver el árbol dendrítico en tercera dimensión. La cuantificación de los cambios que experimenta el árbol dendrítico neuronal se realizó a través del análisis de Sholl (Bias, 2002). Los árboles dendríticos son estructuras dinámicas que tienen la capacidad de ramificarse y retraerse en función a la información que recibe (Kulkarni y Firestein, 2012b). Mientras que las espinas dendríticas son el sitio en donde ocurre gran parte de la comunicación sináptica y para que este proceso se lleve a cabo las espinas sufren cambios en su número, forma y tamaño (Kolb y Whishaw, 1998). Estos cambios en las espinas dendríticas se correlacionan con la fuerza de impulso de las conexiones sinápticas y dependen principalmente del esqueleto de actina (Bloss et al., 2011).

7.1 Arborización dendrítica neuronal de la BLA y OBX en ratas macho

Los datos obtenidos del análisis de Sholl de la arborización dendrítica neuronal en BLA muestran cambios en el número de intersecciones dendríticas. Es decir, hay un aumento significativo en la ramificación dendrítica 11 y 12 de ratas macho con OBX en comparación al grupo control (Fig. 26A) (Interacción $F_{22, 483} = 1.673$, $P=0.0290$; ARBORIZACIÓN $F_{22, 483} = 285.8$, $P<0.0001$; LPS $F_{1, 483} = 8.403$, $P<0.0039$). Sin embargo, las ratas hembra con OBX no presentaron cambios significativos en la arborización dendrítica neuronal en comparación al grupo control (Fig. 27A). El orden dendrítico de ramificación no sufrió modificaciones en la BLA de ratas macho (Fig. 26B) o hembras OVX (Fig. 27B). Así como en la LDT tampoco se vio afectada en ratas macho (Fig. 26C) y hembras (Fig. 27C). La densidad y tipificación de espinas dendríticas no fue afectada por la OBX en ratas macho (Fig. 26D y E) y hembras OVX (Fig. 27 D y E).

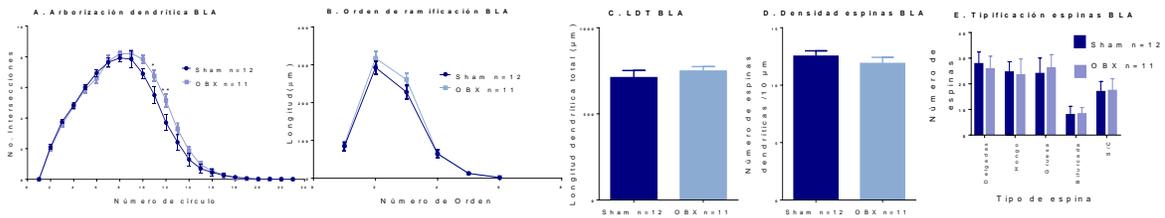


Figura 26. La OBX en ratas macho hipertrofia la arborización dendrítica neuronal en BLA. La arborización dendrítica de células piramidales presenta aumento de la ramificación dendrítica (A). El orden dendrítico (B), LDT (C), densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) no sufrieron modificación como consecuencia a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 12 ratas Sham y n=11 ratas OBX, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal. *P< 0.05, **P< 0.01

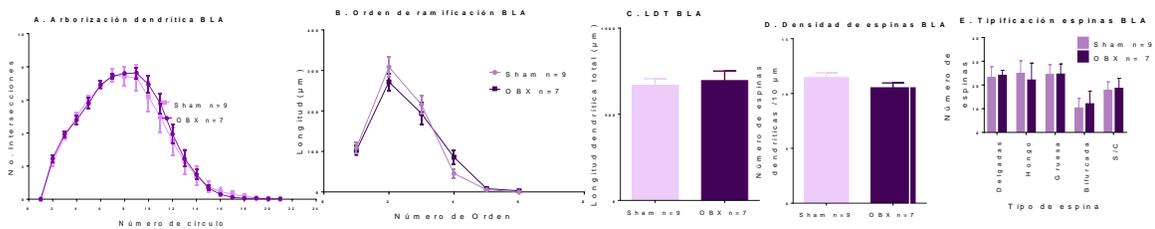


Figura 27. La BLA no es modificada por la OBX en ratas hembra OVX. La arborización dendrítica (A), el orden dendrítico (B), LDT (C), densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) no sufrieron modificación como consecuencia a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 9 ratas sham y n= 7 ratas OBX, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

7.2 OBX y densidad de espinas dendríticas en la CPF capa V de ratas macho

La arborización dendrítica y densidad de espinas dendríticas se evaluó en aproximadamente 7 a 10 neuronas por región para cada animal. Los resultados indican que a los 28 días posteriores a la cirugía OBX disminuyó la densidad de espinas dendríticas en la CPF capa V en ratas macho (Fig. 28D) ($P=0.0048$). Sin cambios en la densidad de espinas dendríticas en ratas hembra OVX (Fig. 29D). La tipificación de espinas no mostró la presencia en mayor o en menor cantidad de algún tipo específico de espinas en la CPF capa V tanto en ratas macho (Fig. 28E), como en hembras OVX (Fig. 29E) del grupo con OBX en comparación al grupo Sham.

El análisis cuantitativo mostró reducción en el anillo 12 de la arborización dendrítica en la CPF capa V de ratas macho (Fig. 28A) (Interacción $F_{22, 506} = 1.363$, $P=0.1259$; arborización $F_{22, 506} = 508.2$, $P<0.0001$; LPS $F_{1, 506} = 7.284$, $P=0.0072$). Sin embargo, la OBX no tuvo efectos sobre la arborización dendrítica de la CPF capa V en ratas hembra OVX (Fig. 29A). El orden dendrítico no difirió entre los grupos de machos (Fig. 28B) y hembras (Fig. 29B). En la LDT no

se encontraron cambios significativos entre machos (Fig. 28C) y hembras OVX (Fig. 29C) con OBX.

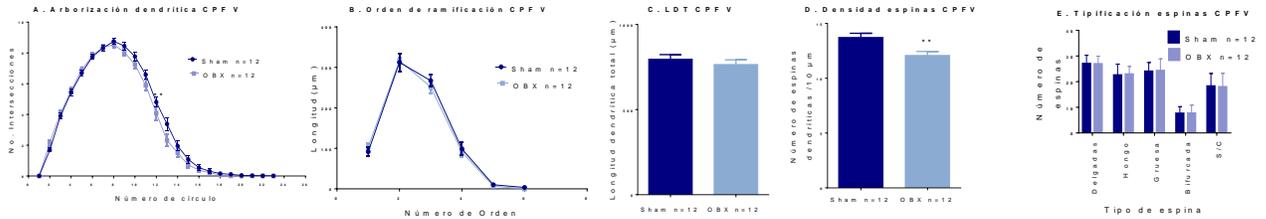


Figura 28. La OBX reduce la densidad de espinas de la CPF capa V en ratas macho. La arborización dendrítica (A) y densidad de espinas dendríticas (D) reducen como consecuencia a la OBX. Mientras que el orden dendrítico (B), LDT (C) y tipificación de espinas dendríticas (E) no tuvieron cambios como consecuencia a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 12 ratas por grupo, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal. **P< 0.01.

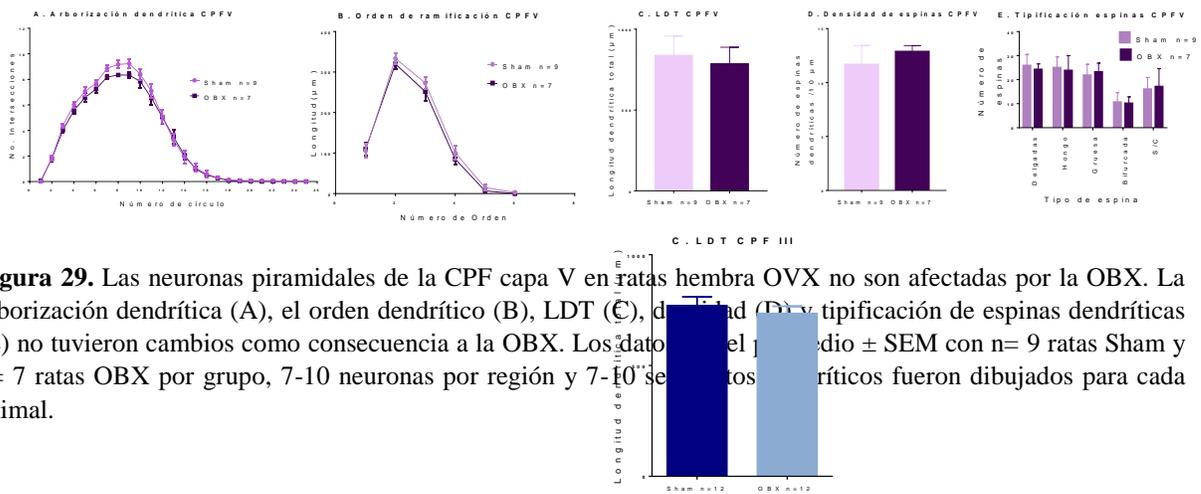


Figura 29. Las neuronas piramidales de la CPF capa V en ratas hembra OVX no son afectadas por la OBX. La arborización dendrítica (A), el orden dendrítico (B), LDT (C), densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) no tuvieron cambios como consecuencia a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 9 ratas Sham y n= 7 ratas OBX por grupo, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

7.3 OBX y morfología dendrítica neuronal en la CPF capa III en ratas

El estrés crónico durante 3 semanas resultó en reducción significativa del número y longitud de ramas dendrítica en neuronas piramidales de la CPF capa III en ratas macho (Cook y Wellman, 2004; Garrett y Wellman, 2009b). Mientras que en las hembras hubo aumento de la longitud dendrítica como respuesta al estrés (Garrett y Wellman, 2009b). La OBX no mostró efectos sobre la arborización dendrítica de machos (Fig. 30A) y hembras OVX (Fig. 31A). De igual manera el orden de ramificación no difirió entre animales OBX ratas macho (Fig. 30B) y hembras OVX (Fig. 31B), así como, en la LDT de ratas macho (Fig. 30C) y hembras (Fig. 31C), tipificación de ratas macho (Fig. 30D) y hembras OVX (Fig. 31D), y densidad de espinas dendríticas de ratas macho (Fig. 30E) y hembras OVX (Fig. 31E) en neuronas piramidales de la CPF capa III.

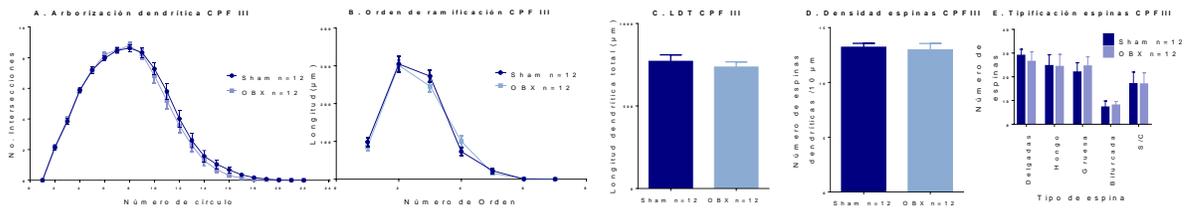


Figura 30. Las neuronas piramidales de la CPF capa III no se modifican por la OBX en ratas macho. La arborización dendrítica (A), el orden dendrítico (B), LDT (C), densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) no tuvieron cambios como consecuencia a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 12 ratas por grupo, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

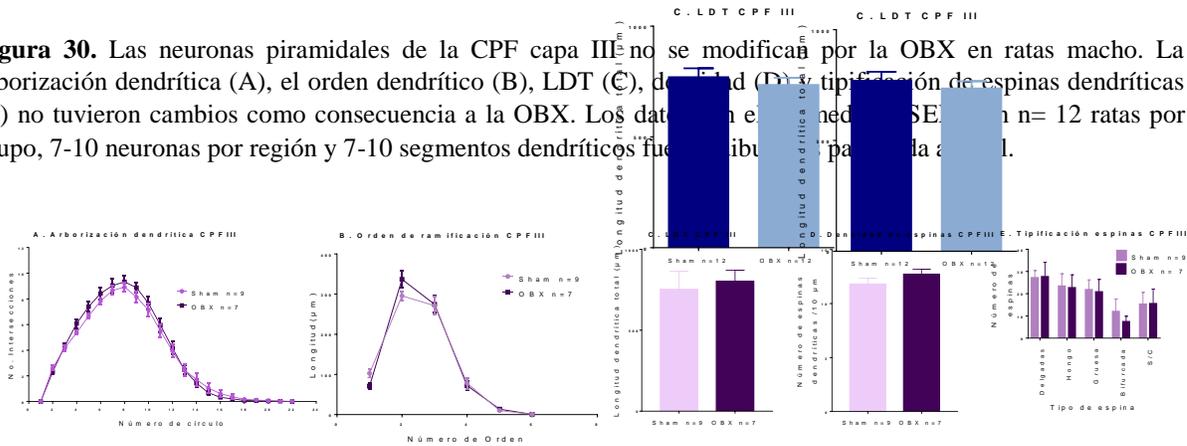


Figura 31. La OBX no genera cambios en la CPF capa III en ratas hembra OVX. La arborización dendrítica (A), el orden dendrítico (B), LDT (C), densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) no sufrieron modificación como consecuencia a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 9 ratas sham y n= 7 ratas OBX, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

7.4 OBX y morfología de neuronas piramidales en el subcampo CA1 HD

La administración crónica de CORT induce hipotrofia dendrítica neuronal en el subcampo CA1 HD de ratas macho (Morales-Medina et al., 2009). Nuestros resultados indican que a los 28 días posteriores a la cirugía OBX, la arborización dendrítica neuronal en HD CA1 no presenta modificaciones en la morfología dendrítica de neuronas piramidales de ratas macho y hembras. Los resultados para arborización dendrítica se mantuvieron similares entre ratas macho (Fig. 32A) y hembras (fig.33A) con OBX en comparación a su grupo control. El orden de ramificación y LDT de ratas macho (Fig.32B y C) y hembra (Fig. 33B y C) con OBX no presentaron cambios significativos en comparación al grupo Sham. Así también, en el análisis de densidad y tipificación de espinas entre animales OBX y Sham no mostraron modificaciones en ratas macho (Fig. 32D y E) y hembras (Fig. 33D y E).

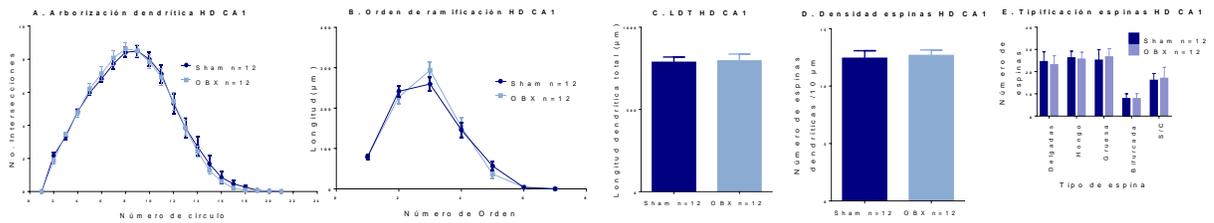


Figura 32. Las células piramidales de HD CA1 no sufren modificaciones en ratas macho OBX. La arborización dendrítica de células piramidales (A), el orden dendrítico (B); la LDT (C), la densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) no presentaron atrofia como respuesta a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 12 ratas por grupo, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

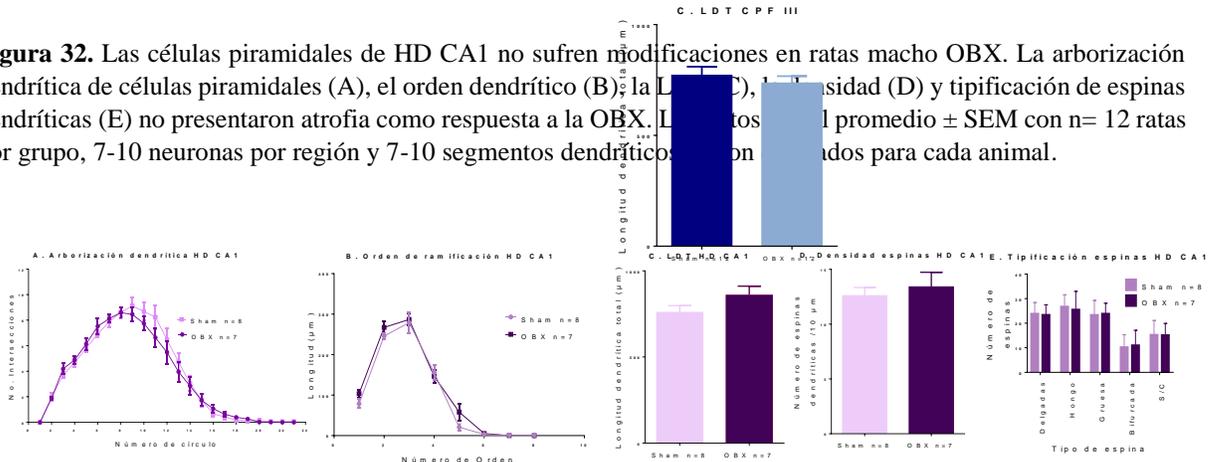


Figura 33. El HD CA1 de ratas hembra OBX no presenta atrofia neuronal. La arborización dendrítica de células piramidales (A), el orden dendrítico (B), la LDT (C), la densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) no presentaron atrofia como respuesta a la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con n= 8 ratas Sham y n=7 ratas OBX, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

7.5 Morfología de células piramidales de HD CA3 en ratas macho y hembra OBX

El HD es considerada una estructura con altos niveles a receptores de glucocorticoides, lo que lo hace una región susceptible al estrés y a la depresión. Las ratas macho de la cepa SD sometidas a estrés por restricción las neuronas de HD CA3 no presentan cambios morfológicos (Watanabe et al., 1992). Nuestros resultados muestran que la OBX no produce efectos neuromorfológicos en HD CA3. El análisis de Sholl mostró que la arborización dendrítica no presenta cambios significativos en ratas macho (Fig. 34A) y hembras (fig. 35A) con OBX en comparación a su grupo control. Lo anterior es similar a lo que ocurre en el orden de ramificación y LDT de ratas macho (Fig.34B y C) y hembra (Fig. 35B y C) con OBX. El análisis de densidad y tipificación de espinas entre animales OBX y Sham tampoco se encontraron cambios significativos en ratas macho (Fig. 34 D y E) y hembras (Fig. 35 D y E).

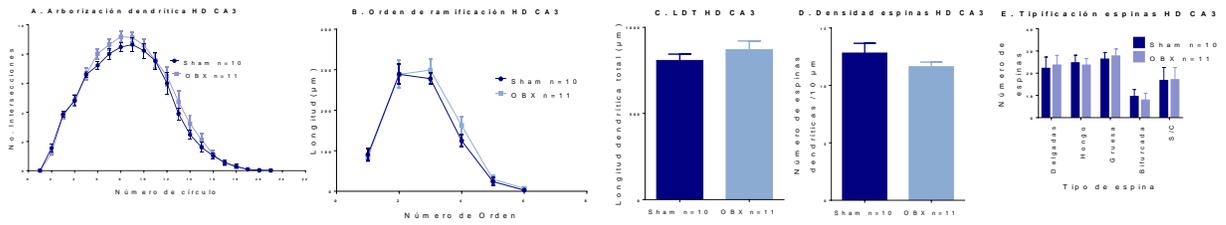


Figura 34. La OBX no tiene efectos sobre las neuronas piramidales del HD CA3. La arborización dendrítica (A), el orden dendrítico (B), la LDT (C), la densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) permanecen sin cambios después de la OBX. Los datos son el promedio \pm SEM con $n=10$ Sham y $n=11$ OBX, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

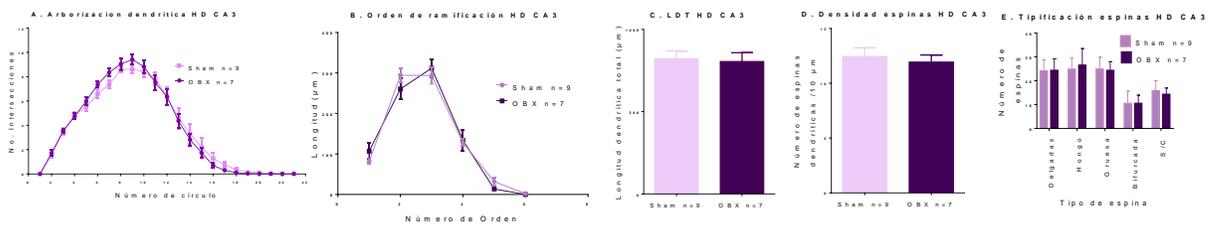


Figura 35. La OBX no tiene efectos sobre las neuronas piramidales del HD CA3. La arborización dendrítica (A), el orden dendrítico (B), la LDT (C), la densidad (D) y tipificación de espinas dendríticas (E) permanecen sin cambios después de la OBX de ratas hembra OVX. Los datos son el promedio \pm SEM con $n=9$ Sham y $n=7$ OBX, 7-10 neuronas por región y 7-10 segmentos dendríticos fueron dibujados para cada animal.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En roedores con OBX se ha encontrado que presentan cambios conductuales como irritabilidad, déficits de memoria tal y como se ha observado en pacientes con TDM (Kelly et al., 1997). En este modelo, también se han demostrado cambios en neuronas de áreas relacionadas con los BO (Song y Leonard, 2005). El sistema límbico-cortical al que pertenecen el HD, la BLA y la CPF se encuentra involucrado en procesos afectivos y en la formación de la memoria. Además, participa en procesos cognitivos influenciados por el estrés (Garrett y Wellman, 2009b). Para este estudio, hemos evaluado los efectos de la OBX a los 28 días postcirugía en ratas macho y hembras OVX. Realizamos análisis neuromorfológicos que incluyo la arborización dendrítica, orden dendrítico y LDT, además, tipificación y densidad de espinas en la CPF capa III y V, HD CA1 y CA3 y, BLA. Los resultados sobre el análisis de la morfología dendrítica neuronal en el

sistema límbico-cortical de ratas macho OBX de la cepa Wistar mostraron aumento de la arborización dendrítica en la BLA y reducción de la densidad de espinas dendríticas en la CPF capa V. Sin embargo, no se mostraron cambios significativos en la CPF capa III y en HD CA1 y CA3 entre ratas OBX y Sham. Así mismo, las ratas hembra OVX no mostraron atrofia de la morfología dendrítica neuronal en el sistema límbico-cortical en respuesta a la OBX.

8.1 OBX e hipertrofia dendrítica neuronal en BLA de ratas macho

La BLA forma parte del sistema límbico y mantiene conexión con la CPF y el HD CA1 es una región que participa en procesos emocionales (Benarroch, 2015). La BLA es un núcleo con altas concentraciones a glucocorticoides, y ayuda en la regulación del eje HPA (Morales-Medina et al., 2009). Las neuronas amigdaloides son sensibles a factores de estrés y pueden modificarse como respuesta al TDM (Mitra y Sapolsky, 2008). En animales OBX, las alteraciones endocrinas que se encuentran relacionadas al eje HPA y aumento en los niveles de CORT (Radley et al., 2004). Estudios preclínicos y clínicos han mostrado que el estrés y el TDM producen cambios morfométricos en el sistema límbico de pacientes deprimidos (Kulkarni y Firestein, 2012b).

En el presente estudio demostramos que a los 28 días posteriores a la OBX la BLA presenta hipertrofia dendrítica neuronal en ratas macho de la cepa Wistar. Estos datos son consistentes a lo que reportaron Kim et al., (2014) y Mitra y Sapolsky (2008), quienes mostraron que en las ratas fueron sometidas a tratamiento de una sola dosis de CORT. Los resultados indicaron aumento de la ramificación dendrítica neuronal a los 12 días posteriores al tratamiento. El modelo de ramificación, la extensión y retracción de las dendritas son asociadas con el número y distribución de las entradas sinápticas. El desarrollo de la plasticidad sináptica es importante para la actividad correcta de la red neuronal y la función normal del SNC (Kulkani y Fiesteen, 2012). En nuestro estudio, el proceso de plasticidad en la arborización neuronal se ve reflejada por el aumento de la ramificación dendrítica, lo que podría indicar que las neuronas de la BLA adquieren mayor área de superficie para recibir entradas sinápticas (Mitra & Sapolsky, 2008). La actividad sináptica inicial origina el crecimiento del árbol dendrítico y permite la estabilización de las ramas en las que se lleva a cabo la sinapsis por lo cual, un exceso de

estimulación sináptica incrementa la adición de ramas al árbol dendrítico (Rajan y Cline, 1998 citado en Kulkarni y Firestein, 2012). Las ramas dendríticas que se van añadiendo buscan hacer sinapsis con las dendritas vecinas y alcanzar estabilidad (Kulkarni y Firestein, 2012). En estos procesos participan los mecanismos de señalización intracelular, los factores neurotróficos y la señalización endocrina en el SNC (McAllister, 2000 citado en Kulkarni y Firestein, 2012). Sin embargo, el aumento excesivo de la ramificación dendrítica, indica una formación inadecuada de la sinapsis o pérdida de la estabilidad sináptica, conduciendo a la interrupción de los circuitos neuronales y conllevar a enfermedades del SNC, como el TDM. Nuestros resultados podrían interpretarse como una plasticidad de tipo de reactiva, en la cual la arborización dendrítica está aumentando como compensación a la pérdida de las funciones neuronales tras la OBX (Kulkarni y Firestein, 2012) e indicar cambios en los mecanismos intracelulares y extracelulares que dan lugar a diversos trastornos cerebrales (Kulkarni y Firestein, 2012).

Por otra parte, las ratas hembra OVX con OBX no presentaron cambios significativos en la morfología dendrítica, tanto en la arborización dendrítica como en las espinas dendríticas. En el estudio realizado por Morales-Medina et al., (2009), en donde sometieron a tratamiento con CORT durante 21 días a ratas macho de la cepa SD, estas no presentaron cambios neuromorfológicos en esta región. La BLA se activa ante diversos factores de estrés, por lo que la exposición ante factores estresantes no afecta de la misma forma a machos y hembras, e incluso el tiempo para que se presenten estos cambios en la plasticidad neuronal también son diferentes. Lo que podría explicar esta discrepancia en los resultados entre macho y hembras con OBX.

8.2 OBX y densidad de espinas dendríticas neuronales en la CPF capa V

La arborización dendrítica determina el procesamiento de información que mantienen las neuronas en el SNC (Kulkarni y Firestein, 2012b). La atrofia de la morfología dendrítica, ya sea, fragmentación, retracción o pérdida de la ramificación de las dendritas, se asocia al TDM (Kulkarni y Firestein, 2012b). La CPF se encuentra involucrada en procesos cognitivos, aprendizaje y memoria, y mantiene conexión con el sistema límbico (Benarroch, 2015; Sánchez-Navarro y Román, 2004). Esta región se caracteriza por regular la respuesta al estrés y los

cambios que presenta se han relacionado al padecimiento de trastornos mentales (Puig et al., 2019). Por lo anterior, nos planteamos las hipótesis de que la OBX induce hipotrofia dendrítica neuronal en la CPF en ratas macho, mientras que en las hembras induce hipertrofia dendrítica neuronal. Nuestro análisis neuromorfológico de la CPF capa V de ratas macho se encontró que la OBX disminuye la arborización dendrítica y densidad de espinas. Estos cambios sugieren que hay pérdida de la función sináptica, lo que conlleva a disfunción de la CPF y, por lo tanto, cambios emocionales que conducen al TDM. Sin embargo, los resultados también estarían asociados a los cambios que presentó la BLA, ya que, la CPF capa V mantiene conexión recíproca con esta área implicada en los procesos emocionales (Silva y Slachevsky, 2005). La hipertrofia dendrítica neuronal de la BLA podría estar generando sinapsis aberrantes y, con ello, conducir a la interrupción de los circuitos neuronales con la CPF capa V (Kulkarni y Firestein, 2012b). El análisis morfológico no mostró diferencias en el orden dendrítico, LDT y tipificación de espinas en ratas macho con OBX en comparación al grupo Sham. Cabe mencionar que el grupo con OBX de ratas hembra OVX no presentó cambios en el análisis morfológico (arborización dendrítica, orden dendrítico, LDT, densidad y tipificación de espinas) en la CPF capa V. Hasta el momento son pocos los estudios en los que se han evaluado los efectos del TDM en la capa V de la CPF. Pese a que se ha identificado que existen diferencias sexuales en las respuestas conductuales, neuroquímicas y morfológicas que desencadenan al estrés (Garrett & Wellman, 2009b). Este sería el primero de los estudios en donde se evalúan los efectos de este trastorno en hembras. A pesar de que las mujeres tienen mayor susceptibilidad a padecer TDM que los hombres (Graziottin y Serafini, 2009). La variabilidad que se presenta en el TDM se debe principalmente a la fluctuación del estradiol en la mujer. El hecho de que no se hayan encontrado cambios en neuronas piramidales de la CPF capa V podría deberse a la ovariectomía.

En el análisis de la CPF capa III de ratas macho no se encontraron cambios en ninguno de los parámetros medidos (arborización dendrítica, orden dendrítico y LDT). Estos datos son consistentes con un estudio anterior en donde se encontró que la OBX no induce reordenamientos neuronales en la CPF de ratas macho a los 28 días postcirugía (Morales-Medina et al., 2013). En el caso de las hembras OVX la OBX no indujo cambios en la morfología neuronal de la CPF capa III. Estos datos difieren de lo reportado por Garrett y

Wellman en el año 2009, quienes demostraron que el estrés induce aumento en el número y longitud de ramas dendríticas en la CPF capa II y III en ratas hembra OVX. Cabe destacar que los antecedentes están realizados en un modelo de estrés con ratas hembra SD, y que nuestro trabajo es el primero en el que se evalúan los efectos de la OBX (modelo de depresión) utilizando ratas de la cepa Wistar. Estas discrepancias podrían estar asociadas con la sensibilidad al estrés que presenta cada cepa (Gökçek-Saraç et al., 2014). Las diferencias en los resultados se deben a los procesos a los cuales están sometidos nuestros animales afectan de forma diferente a la plasticidad neuronal.

8.3 OBX y morfología dendrítica neuronal en HD CA1 y CA3

El hipocampo forma parte del sistema límbico y mantiene estrecha conexión con la BLA y la CPF (Olivares Hernández et al., 2015). Su función es la adquisición de aprendizaje y memoria a largo y corto plazo (Fanselow y Dong, 2010; Olivares Hernández et al., 2015), y mantiene altos niveles de receptores a glucocorticoides y glutamato, por lo cual es una estructura sensible al estrés (Valencia y Colin, 2017). Esta estructura ha sido blanco de diferentes estudios conductuales y morfológicos neuronales (Morales-Medina et al., 2009). En pacientes con TDM, se han observado alteraciones en el sistema olfativo, como la deficiencia para identificar olores y reducción en el volumen de los BO (Hasegawa et al., 2022; Morales-Medina et al., 2017b). Los BO son el sitio en el cual se realiza el primer cambio neuronal y proyectan a la corteza cerebral y al sistema límbico (Fuentes et al., 2011). Por lo anterior, se podría esperar que el modelo de la OBX induzca atrofia de la morfología dendrítica neuronal en el HD. Similar al estudio de Morales-Medina et al. (2013b), en el cual reportaron que a los 28 días poscirugía OBX las neuronas piramidales del HD CA1 presentaron reducción de la arborización dendrítica en ratas macho de la cepa SD. Nuestros resultados indican que la OBX no tuvo efectos sobre la morfología dendrítica tanto de ratas macho como hembras en el HD CA1. Estas discrepancias podrían estar asociadas a que existen diferencias metodológicas en ambos estudios, tanto la edad y la cepa de las ratas, no olvidando que nuestro estudio no solo se realizó en machos si no también en hembras. En el estudio de Morales-Medina et al., (2013b) sometieron a los animales a diferentes pruebas conductuales. Esto último podría indicar que en nuestro estudio tuvimos muy poca manipulación de los animales, lo que evitó someterlos a mayor estrés.

Woolley et al. (1990) hipotetizaron que la exposición crónica a glucocorticoides altera la morfología dendrítica neuronal del HDCA3. Ellos demostraron que 21 días de tratamiento con CORT no induce cambios morfológicos sobre las neuronas piramidales de HDCA3. Watanabe et al., (1992) mostraron que las neuronas del HDCA3 no presentaron cambios como efecto del estrés crónico de restricción. El análisis neuromorfológico en HDCA3, los resultados no mostraron efectos sobre la arborización dendrítica, orden de ramificación y LDT en esta región como respuesta a la OBX, tanto en ratas macho como hembras OVX de la cepa Wistar. A pesar de que el HD es una región susceptible al estrés y, por lo tanto, su afección podría desencadenar TDM, las ratas de la cepa Wistar no presentaron sensibilidad a los factores de estrés como las ratas SD. Los resultados pueden atribuirse a que los estudios se realizaron a diferentes lapsos. En el caso de las hembras, el número de tejidos analizados fue menor que en comparación a los machos, ya que no hubo una buena impregnación de la tinción de Golgi-Cox en el HD. También podrían deberse a que en la selección de neuronas completamente impregnadas para el análisis morfológico excluimos algunas neuronas en degeneración, las cuales, según Woolley et al., (1990) tienen menos probabilidad de estar impregnadas.

8.4 OBX y densidad y tipificación de espinas en el sistema límbico- cortical

Las espinas dendríticas son el principal sitio de conexión sináptica. La plasticidad en estas estructuras implica la reorganización en su número, forma y tamaño (Chidambaram et al., 2019). A través de la reorganización de espinas dendríticas podemos medir su estabilidad o fuerza sináptica (Bloss et al., 2011). Enfermedades como el estrés crónico conllevan a cambios en el número, forma y tamaño de las espinas dendríticas (Qiao et al., 2016). Estos cambios en la plasticidad de espinas son indicativos del aumento o disminución de contactos sinápticos, y pueden ser a largo o corto plazo, degenerativos o protectores (Valencia y Colín, 2017). En este estudio nuestros resultados muestran que las espinas dendríticas de la CPF capa III y V de ratas macho y hembras OVX no presentan cambios como consecuencia a la OBX. Estos datos difieren de otros estudios en donde se ha reportado reducción de la densidad de espinas dendríticas como consecuencia al estrés (Radley et al., 2004). El aumento de la densidad de espinas en ratas tratadas con CORT (Seib y Wellman, 2003). Todas estas discrepancias reportadas se deben a

que los estudios se han realizado en ratas macho, en diferentes cepas y edades. Nuestro estudio es el primero que evalúa los efectos de la OBX sobre la densidad y tipificación de espinas en ratas macho y hembras OVX. Nuestros resultados podrían indicar que los cambios en la plasticidad de las espinas dendríticas fueron a corto plazo. Para estudios futuros se podrían evaluar los efectos de la OBX sobre la plasticidad de espinas dendríticas a diferentes tiempos, con la finalidad de dilucidar si hay cambios en la plasticidad sináptica de las espinas y si pudieran ser a largo o corto plazo.

IX. CONCLUSIÓN

Las ratas macho de la cepa Wistar con OBX mostraron aumento de la arborización dendrítica en el círculo 11 y 12 de células piramidales en la BLA, y disminución de la densidad de espinas en la CPF capa V. Dichos cambios podrían estar asociados a la pérdida de la estabilidad sináptica, por la interrupción de los circuitos neuronales entre el sistema límbico y cortical. Esto explicaría los cambios afectivos y de memoria que presentan las ratas con OBX. Sorprendentemente la OBX en ratas hembra OVX no indujo cambios sobre la morfología dendrítica neuronal. Lo que sugiere que aun con ausencia de estrógenos, las hembras OVX con OBX presentan cierta protección a tener alteraciones plásticas. Esto da paso a seguir indagando sobre los mecanismos que se llevan a cabo en la plasticidad sináptica en hembras OBX, con la finalidad de dilucidar las causas de que las mujeres tengan mayor susceptibilidad a padecer TDM.

X. PERSPECTIVAS

Evaluar los efectos de la OBX sobre la morfología dendrítica neuronal en sistema límbico-cortical en ratas hembra sin OVX.

Estudiar los efectos de la OBX en la morfología dendrítica neuronal a diferentes lapsos de tiempo en el sistema límbico-cortical de ratas macho y hembra.

XI. REFERENCIAS

- Aler Fuentes-María, Javiera Fresno-Hugo, Santander- Saúl Valenzuela- Mario Felipe Gutiérrez-Rodolfo Miralles. (2011). Sensopercepción olfatoria: una revisión. *Revista Medica Chile*, 139, 362-367.
- Barrera Ocampo, Á. A., Céspedes Rubio, Á. E., & Cardona Gómez, G. P. (2008). Mecanismo potencial de neuroprotección y plasticidad sináptica inducidas por el estradiol a través de PI3K/GSK3beta en la isquemia cerebral. *Revista de Neurología*, 46(01), 32.
- Bello-Medina, P. C., González-Franco, D. A., Vargas-Rodríguez, I., & Díaz-Cintra, S. (2021). Oxidative stress, the immune response, synaptic plasticity, and cognition in transgenic models of Alzheimer disease. *Neurología*, 37, 682-690.
- Benarroch, E. E. (2015). La amígdala Organización funcional y su participación en trastornos neurológicos. *Neurology*, 84, 31–42.
- Sánchez, F. J., de Blas, M. R., & Caminero, A. A. (2002). NEUROMET: Sistema de cuantificación y análisis del campo dendrítico neuronal. En: *Metodología de las ciencias del comportamiento*. Caminero A. (eds.) Editorial AEMCCO. Madrid. Pp.500.
- Bloss, E. B., Janssen, W. G., Ohm, D. T., Yuk, F. J., Wadsworth, S., Saardi, K. M., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2011). Evidence for reduced experience-dependent dendritic spine plasticity in the aging prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 31(21), 7831–7839.
- Brusco, J., Dall'Oglio, A., Rocha, L. B., Rossi, M. A., Moreira, J. E., & Rasia-Filho, A. A. (2010). Descriptive findings on the morphology of dendritic spines in the rat medial amygdala. *Neuroscience Letters*, 483(2), 152–156.
- Cabrera-Pedraza, V. R., de Jesús Gómez-Villalobos, M., de la Cruz, F., Aguilar-Alonso, P., Zamudio, S., & Flores, G. (2017). Pregnancy improves cognitive deficit and neuronal morphology atrophy in the prefrontal cortex and hippocampus of aging spontaneously hypertensive rats. *Synapse*, 71(10), 1–14.

- Cain, D. P. (1974). The role of the olfactory bulb in limbic mechanisms. *Psychological Bulletin*, 81(10), 654–671.
- Cassano, P., & Argibay, P. (2009). La enfermedad depresiva y sus modelos animales. *Revista Del Hospital Italiano de Buenos Aires*. 2(29), 117-120.
- Chidambaram, S. B., Rathipriya, A. G., Bolla, S. R., Bhat, A., Ray, B., Mahalakshmi, A. M., Manivasagam, T., Thenmozhi, A. J., Essa, M. M., Guillemin, G. J., Chandra, R., & Sakharkar, M. K. (2019). Dendritic spines: Revisiting the physiological role. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 92, 161–193.
- Cook, S. C., & Wellman, C. L. (2004). Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Journal of Neurobiology*, 60(2), 236–248.
- Hernández, O. D. J., Aguilar, E. J., & García, G. F. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Revista Médica Universidad Veracruzana*, 20-28.
- Everardo, J., & Morales, A. (2011). La estructura del sistema nervioso. México: Asociación Oaxaqueña de Psicología A.C.
- Fanselow, M. S., & Dong, H. W. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? In *Neuron*, 65(1), 7-19.
- Fuentes, A., Fresno, M. J., Santander, H., Valenzuela, S., Gutiérrez, M. F., & Miralles, R. (2011). Sensopercepción olfatoria: Una revision. *Revista Medica de Chile*, 139(3), 362–367.
- Garrett, J. E., & Wellman, C. L. (2009a). Chronic stress effects on dendritic morphology in medial prefrontal cortex: sex differences and estrogen dependence. *Neuroscience*, 162(1), 195–207.
- Gitanjali Das, Kenneth Reuhl, and R. Z. (2013). Chapter 1 Isolation and Maintenance of Cortical Neural. 1018, 313–321.
- Gökçek-Saraç, Ç., Wesierska, M., & Jakubowska-Doğru, E. (2014). Comparison of spatial learning in the partially baited radial-arm maze task between commonly used rat strains:

Wistar, Spargue-Dawley, Long-Evans, and outcrossed Wistar/Sprague-Dawley. *Learning and Behavior*, 43(1), 83–94.

Graziottin, A., & Serafini, A. (2009). Depression and the menopause: Why antidepressants are not enough? *Menopause International*, 15(2), 76–81.

Guadarrama, L., Escobar, A., & Zhang, L. (2006). Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. *Revista de La Facultad de Medicina*, 49(2), 66-72.

Hasegawa, Y., Ma, M., Sawa, A., Lane, A. P., & Kamiya, A. (2022). Olfactory impairment in psychiatric disorders: Does nasal inflammation impact disease psychophysiology? In *Translational Psychiatry*, 12(1), 1-6.

Leiva-Revilla, J., Guerra-Castañón, F., Olcese-Mori, P., & Lozada, I., Rubio, J., Gonzales, C., Gonzales, G. F. (2014). Efecto de la maca roja (*lepidium meyenii*) sobre los niveles de ifn- γ en ratas ovariectomizadas. *Revista Peruana Medica Exp Salud Pública*. 31(4), 683–688.

Jesulola, E., Micalos, P., & Baguley, I. J. (2018). Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? In *Behavioural Brain Research*, 79-90.

Kelly, J. P., Wrynn, A. S., & Leonard, B. E. (1997). The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: An update. *Pharmacology and Therapeutics*, 74(3), 299–316.

Kim, H. R., Lee, Y. J., Kim, T. W., Lim, R. N., Hwang, D. Y., Moffat, J. J., Kim, S., Seo, J. W., & Ka, M. (2020). *Asparagus cochinchinensis* extract ameliorates menopausal depression in ovariectomized rats under chronic unpredictable mild stress. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 1–15.

Kim, H., Yi, J. H., Choi, K., Hong, S., Shin, K. S., & Kang, S. J. (2014). Regional differences in acute corticosterone-induced dendritic remodeling in the rat brain and their behavioral consequences. *BMC Neuroscience*, 15, 1–11.

- Kolb, B., Harker, A., & Gibb, R. (2017). Principles of plasticity in the developing brain. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 59(12), 1218–1223.
- Kolb, B., & Whishaw, I. Q. (1998). Brain plasticity and behavior. *Annual Review of Psychology*, 49, 43–64.
- Kulkarni, V. A., & Firestein, B. L. (2012a). The dendritic tree and brain disorders. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 50(1), 10–20.
- Matthews, K., Christmas, D., Swan, J., & Sorrell, E. (2005). Animal models of depression: Navigating through the clinical fog. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(4–5), 503–513.
- Mitra, R., Jadhav, S., Mcewen, B. S., Vyas, A., & Chattarji, S. (2005). Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *PNAS*, 102 (26), 9371-0376.
- Mitra, R., & Sapolsky, R. M. (2008). Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(14), 5573–5578.
- Morales-Medina, J. C., Iannitti, T., Freeman, A., & Caldwell, H. K. (2017a). The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: The hippocampal pathway. *Behavioural Brain Research*, 317, 562–575.
- Morales-Medina, J. C., Juarez, I., Iannitti, T., & Flores, G. (2013a). Olfactory bulbectomy induces neuronal rearrangement in the entorhinal cortex in the rat. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 52, 80–86.
- Morales-Medina, J. C., Juarez, I., Venancio-García, E., Cabrera, S. N., Menard, C., Yu, W., Flores, G., Mechawar, N., & Quirion, R. (2013b). Impaired structural hippocampal plasticity is associated with emotional and memory deficits in the olfactory bulbectomized rat. *Neuroscience*, 236, 233–243.

- Morales-Medina, J. C., Sanchez, F., Flores, G., Dumont, Y., & Quirion, R. (2009). Morphological reorganization after repeated corticosterone administration in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala in the rat. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 38(4), 266–272.
- Puig Velasco, M. V., Celada Pedrosa, P., & Artigas Pérez, F. (2019). Control serotoninérgico de la corteza prefrontal. *Revista de Neurología*, 39(06), 539-547.
- Qiao, H., Li, M. X., Xu, C., Chen, H. Bin, An, S. C., & Ma, X. M. (2016). Dendritic Spines in Depression: What We Learned from Animal Models. *Neural Plasticity*, 2016, 20–24.
- Rachman, I. M., Unnerstall, J. R., Pfaff, D. W., & Cohen, R. S. (1998). Estrogen alters behavior and forebrain c-fos expression in ovariectomized rats subjected to the forced swim test. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(23), 13941–13946.
- Radley, J. J., Sisti, H. M., Hao, J., Rocher, A. B., McCall, T., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 125(1), 1–6.
- Robinson, N. B., Krieger, K., Khan, F., Huffman, W., Chang, M., Naik, A., Yongle, R., Hameed, I., Krieger, K., Girardi, L. N., & Gaudino, M. (2019). The current state of animal models in research: A review. *International Journal of Surgery*, 72, 9–13.
- Sánchez-Navarro, J. P., & Román, F. (2004a). Amígdala, corteza prefrontal y especialización hemisférica en la experiencia y expresión emocional. *Anales de Psicología*, 20, 223–240.
- Sarró-Maluquer, M., Ferrer-Feliu, A., Rando-Matos, Y., Formiga, F., & Rojas-Farreras, S. (2013). Depression in the elderly: Prevalence and associated factors. *Semergen*, 39(7), 354–360.
- Seib, L. M., & Wellman, C. L. (2003). Daily injections alter spine density in rat medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 337(1), 29–32.

Silva, J. R. (2005a). Asimetrías funcionales frontales en el trastorno depresivo mayor. *Revista Chilena de Neuro-Psiquiatría*, 43(4), 305–313.

Silva, J., & Slachevsky, A. (2005). Modulación de la actividad de la corteza prefrontal como mecanismo putativo del cambio en psicoterapia. *International Journal of Clinical and Health Psychology*, 5, 609–625.

Song, C., & Leonard, B. E. (2005). The olfactory bulbectomized rat as a model of depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(4–5), 627–647.

Torres-Fernández, O., Yepes, G. E., & Gómez, J. E. (2007). Neuronal dendritic morphology alterations in the cerebral cortex of rabies-infected mice: A Golgi study. *Biomedica*, 27(4), 605–613.

Valdés G., J. L., & Torrealba L., F. (2006). La corteza prefrontal medial controla el alerta conductual y vegetativo. Implicancias en desórdenes de la conducta. *Revista Chilena de Neuro-Psiquiatría*, 44(3), 195–204.

Valencia, R. K., & Colín, L. (2017). Las espinas dendríticas su función y algunas alteraciones. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 61(1), 46–55.

Van Riezen, H., & Leonard, B. E. (1990). Effects of psychotropic drugs on the behavior and neurochemistry of olfactory bulbectomized rats. In *Pharmacology and Therapeutics*, 46(1), 21-34.

Vega-Rivera, N. M., Fernández-Guasti, J. A., Ramírez-Rodríguez, G. B., Castro-García, M., & Estrada-Camarena, E. (2012). Regulación de la neurogénesis hipocámpica por los estrógenos: Su relación con la depresión. *Salud Mental*, 35(6), 527–533.

Camacho Ugarte, V., Bastida Codina, A., & Giovana Zarate, S. (2020). Estudio anatómico del hipocampo como una de las regiones de neurogénesis más relevante. *Revista Científica Médica*, 23(2), 221-230.

Watanabe, Y., Gould, E., & McEwen, B. S. (1992). Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. In *Brain Research*, 588, 341-345.

Woolley, C. S., Gould, E., & McEwen, B. S. (1990). Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. In *Brain Research*, 531, 225-231.

Yang, Y., & Wang, J. Z. (2017). From structure to behavior in basolateral amygdala-hippocampus circuits. In *Frontiers in Neural Circuits*, 11(86), 1-8.

Zhang, Z. W. (2004). Maturation of Layer V Pyramidal Neurons in the Rat Prefrontal Cortex: Intrinsic Properties and Synaptic Function. *Journal of Neurophysiology*, 91(3), 1171–1182.

XII. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Aguda. - Trastorno transitorio grave, que aparece en un individuo sin otro trastorno mental aparente y que tiende a remitir en horas o días.

Anhedonia. – Se define como la incapacidad de presentar placer, la pérdida de interés o satisfacción.

Bifurcación. - Es la acción y efecto de dividirse, o el lugar en el cual se produce dicha división.

Conducta. - Las formas y métodos para la ejecución de funciones vitales de cada organismo. Se moldea por el entorno y los procesos internos de los estímulos.

Crónica. - Trastorno depresivo persistente.

Desarrollo cognitivo. - Es el proceso mediante el cual el ser humano va adquiriendo conocimiento a través del aprendizaje y la experiencia. Como pensar, hablar o crear obras de arte.

Estrés. – Es definido como el conjunto de alteraciones producidas en el organismo como una respuesta física ante diversos estímulos repetidos. Generando incapacidad o dificultad para llevar a cabo una activación fisiológica o conductual.

Neuroplasticidad. - Es definida como la habilidad del cerebro para reorganizarse a sí mismo y formar nuevas conexiones neuronales a lo largo de la vida.

Neuroprotección. – proceso mediante el cual se previene, retarda o revierte la muerte celular originada por lesiones neuronales.

OBX. - Bulbectomía olfatoria

OVX. - Ovariectomía

Plasticidad sináptica. – Mecanismo por el cual el SN reestructura sus redes neuronales, como respuesta a factores internos y externos.

Subcortical. – En la profundidad del encéfalo

Tinción. - Es una reacción química, en la que sustancias coloreadas son capaces de unirse de manera más o menos específica a estructuras del tejido aportándoles color.

XIII. Anexos

13.1 Presentación de trabajo libre en el 9no congreso virtual de ciencias químico-biológicas



13.2 Presentación de cartel en la XIV Jornadas de Ciencias Químicas Dra. Rosalina Carrillo Núñez.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
ZACATECAS
"Francisco García Salinas"

LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y LA
COORDINACIÓN DEL ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

PATRICIA SÁNCHEZ TEYOOTL,
JULIO CÉSAR MORALES MEDINA

A:

Por su valiosa participación en la presentación del trabajo en modalidad Cartel:
Análisis neuromorfológico en la corteza prefrontal de ratas macho y hembra de la cepa Wistar en un modelo de depresión.

durante las **XIV Jornadas de Ciencias Químicas**
"Dra. Rosalina Carrillo Núñez"

en el marco del Año Internacional del Desarrollo Sostenible,
del 25 al 27 de mayo de 2022 en las instalaciones de la
Unidad Académica de Ciencias Químicas,
con un valor curricular de 10 horas crédito

Zacatecas, Zac., 27 de Mayo de 2022

Dra. María Angélica López Luna
Directora
Unidad Académica de Ciencias Químicas

Dr. Juan Aramis Flores de la Torre
Coordinador
Área de Ciencias de la Salud

SOMOS
ARTE, CIENCIA Y
DESARROLLO
CULTURAL

UBCQ

XIV JORNADAS DE CIENCIAS QUÍMICAS
Dra. Rosalina Carrillo Núñez

25, 26 Y 27
MAYO
2022

13.3 Presentación de seminario en la Maestría de Ciencias Biológicas de la UATx.



Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



CONSTANCIA

A Patricia Sánchez Teoyotl
Estudiante de Maestría en Ciencias Biológicas

Por impartir el seminario

"Análisis neuromorfológico de la corteza prefrontal en un modelo de depresión en ratas macho y hembra de la cepa Wistar"

"Por la Cultura a la Justicia Social"
Tlaxcala, Tlax., a 9 de junio de 2022


Dra. Margarita Martínez Gómez

Coord. General del Posgrado en Ciencias Biológicas



Posgrado
Ciencias Biológicas



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma: ISO 9001-2015- NMX-CC-9001-IMNC-2015