



**BENEMÉRITA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---



**CENTRO DE QUÍMICA DEL INSTITUTO DE CIENCIAS**

**POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**“Evaluación de la actividad neuronal y  
neurogénesis en ratas con bulbectomía olfatoria  
como modelo de depresión”**

Tesis para obtener el grado de:

**Maestría en Ciencias Químicas  
Área de Bioquímica y Biología Molecular**

Presenta:

**QFB. Ricardo Morales Hernández**

Directores de tesis:

**D. en C. Patricia Aguilar Alonso  
D. en C. Julio César Morales Medina**



**BUAP**

**A QUIEN CORRESPONDA:**

Por este conducto la Comisión Revisora formada por el Dr. Eduardo Miguel Brambila Colombres, Dra. Julia Flores Tochiuhtl, Dra. Lourdes Millán Pérez Peña y la Dra. Dora Luz Corona Quintanilla, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada **“Evaluación de la actividad neuronal y neurogénesis en ratas con bulbectomía olfatoria como modelo de depresión”**, que presenta el alumno **Ricardo Morales Hernández** para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los veintiséis días del mes de noviembre del año dos mil diecinueve.

**ATENTAMENTE**

Dr. Eduardo Miguel Brambila Colombres

Dra. Julia Flores Tochiuhtl

Dra. Lourdes Millán Pérez Peña

Dra. Dora Luz Corona Quintanilla

Posgrado en Ciencias Químicas  
Facultad de Ciencias Químicas  
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio FCQ 10,  
Ciudad Universitaria  
Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570  
01 (222) 229 55 00 Ext. 7397  
posgrado.quimica@correo.buap.mx

**Esta tesis se realizó en los laboratorios del Centro de Investigación en Reproducción Animal UATx-CINVESTAV y Laboratorio de Investigaciones Químico Clínicas Departamento Bioquímica-Alimentos Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Fue financiada con la beca 819846 otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.**

## RESUMEN

El desorden depresivo mayor (DDM) está asociado con alteraciones en el sistema límbico. Existen modelos biológicos que simulan los síntomas observados en pacientes con DDM. Dentro de estos modelos, la bulbectomía olfatoria bilateral (OBX) destaca por presentar degeneraciones neuronales en el sistema límbico provocando una disminución en la neurogénesis en el giro dentado (GD) del hipocampo y un aumento en la sensibilidad al estrés que se manifiesta a través de una hiperactividad en entornos novedosos. Sin embargo, se ha observado diferencias entre distintas cepas y en la actualidad se desconoce la actividad neuronal en las estructuras que participan en el procesamiento de la novedad en ratas OBX y su correlación con la neurogénesis y hiperlocomoción en pruebas de campo abierto (PCA). Por esta razón, se busca cuantificar la expresión de c-Fos (marcador de actividad neuronal) en regiones del sistema límbico como corteza prefrontal (CPF), núcleo reticular talámico (RT), en las subregiones CA1, CA2 y giro dentado (GD) del hipocampo, así como amígdala basolateral (BLA) en ratas expuestas a PCA. En este estudio se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar y Sprague Dawley con un peso de 250-300 g, separadas en dos grupos: grupo problema (OBX) y grupo control (Sham o lesión falsa). Tres semanas después de la lesión, todas las ratas fueron sometidas a una PCA durante 5 min con una iluminación de 60 Lux donde se evaluó su conducta horizontal (número de cuadros visitados) y vertical (número de acicalamientos y postura erguida), dos horas después de la prueba se sacrificaron los animales mediante perfusión cardiaca para posteriormente medir la expresión de c-Fos y Ki67. Los resultados mostraron un incremento en el número de eventos de postura erguida y cuadros visitados en ambas cepas, no obstante, se encontró una diferencia en el número de acicalamientos entre ambas cepas. Asimismo, se observó un incremento en la expresión de c-Fos en PCF y GD de las ratas Wistar, mientras que SD no presento cambios. Por su parte, la cuantificación de Ki67 mostró una disminución en la neurogénesis en GD de ambas cepas. En conclusión, estos datos son consistentes con los antecedentes, lo que sugiere que las ratas tienen una incapacidad de adaptarse a entornos novedosos, a causa del daño neuronal ocasionado por la lesión, no obstante, las diferencias observadas entre ambas cepas, podría estar relacionada con la sensibilidad a la lesión y a las características particulares de cada cepa, recordando que Wistar es una cepa con mayor ansiedad en comparación con SD.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	4
ÍNDICE.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	7
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ABREVIATURAS.....	8
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	10
1. Actividad neuronal.....	10
1.1. Respuesta al estrés y entornos novedosos.....	10
1.2. Regiones involucradas en el procesamiento del estrés y la novedad.....	12
1.2.1. Corteza prefrontal.....	13
1.2.2. Amígdala.....	16
1.2.3. Hipocampo.....	18
1.3. Marcadores de actividad celular en entornos novedosos.....	20
1.3.1. c-Fos un protooncogén de expresión rápida.....	21
2. Neurogénesis.....	22
2.1. Neurogénesis en el cerebro adulto.....	23
2.1.1. Células troncales de la zona subventricular (ZSV).....	25
2.1.2. Células troncales del hipocampo.....	25
2.2. Factores que regulan la neurogénesis.....	26
2.3. Marcadores de neurogénesis y supervivencia neuronal.....	27
2.4. Neurogénesis en los trastornos del estado de ánimo.....	28
2.4.1. Depresión.....	28
3. Modelos biológicos para el estudio de trastornos mentales.....	29
3.1. Anatomía del sistema olfatorio de la rata.....	30
3.2. La bulbectomía olfatoria bilateral (OBX) como modelo de depresión.....	31
3.2.1. Cambios en el sistema límbico de la rata después de la OBX.....	34
3.2.2. Cambios de la conducta en dos cepas diferentes después de la OBX... 34	34
JUSTIFICACIÓN.....	37
HIPÓTESIS.....	38
OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	39

4. Objetivo general.....	39
5. Objetivos específicos.....	39
<b>CAPITULO II: DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>40</b>
6. Materiales y métodos .....	40
6.1. Animales .....	40
6.2. Cirugía para generar la OBX.....	40
6.3. Prueba de campo abierto (PCA).....	41
6.4. Protocolo de inmunohistoquímica para c-Fos .....	41
6.5. Protocolo de inmunohistoquímica para Ki-67.....	42
6.6. Diseño y tipo de muestreo .....	44
7. Diseño experimental.....	44
8. Estadística.....	45
9. Resultados .....	45
9.1. Cambios de conducta en ratas sometidas a entornos novedosos .....	45
9.2. La OBX modificó la expresión de c-Fos en el GD del hipocampo dorsal en ratas Wistar, pero no en ratas de la cepa SD.....	47
9.3. La OBX modificó la expresión de c-Fos en CPF en la cepa Wistar, pero no en la cepa SD y no mostró diferencias en BLA y RT.....	50
9.4. La OBX disminuye la proliferación celular en el GD del hipocampo dorsal en ambas cepas.....	53
Discusión.....	55
9.5. La OBX induce una hiper-respuesta a entornos novedosos.....	55
9.6. La OBX modificó la expresión de c-Fos en GD del hipocampo dorsal en ratas Wistar.....	57
9.7. La expresión de c-Fos en CPF aumenta en ratas con OBX.....	58
9.8. La OBX disminuye la proliferación celular en el GD del hipocampo dorsal.....	59
10. Conclusión .....	60
11. Referencias .....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Los sistemas homeostáticos ejercen sus efectos en una curva de U de dosis-respuesta invertida.

**Figura 2.** Corte transversal a través del cerebro que muestra las vías mesolímbica y mesocortical y sus principales funciones.

**Figura 3.** Representación esquemática de la corteza prefrontal y su relación con diferentes áreas.

**Figura 4.** Complejo amigdalóide que muestra el núcleo central, basolateral, lateral y medial de los roedores.

**Figura 5.** Tráfico de información dentro del hipocampo.

**Figura 6.** Mecanismos moleculares de la expresión de c-fos y Fos en neuronas activadas.

**Figura 7.** Representación de las etapas del proceso neurogénico en el hipocampo.

**Figura 8.** Diagrama de las conexiones anatómicas entre los bulbos olfatorios y otras regiones del cerebro de la rata.

**Figura 9.** Diagrama general de trabajo.

**Figura 10.** La bulbectomía olfatoria bilateral (OBX) altera la conducta en la prueba de campo abierto (PCA).

**Figura 11.** Actividad neuronal de las subregiones del hipocampo dorsal de las ratas con OBX de las cepas Wistar y SD.

**Figura 12.** Actividad neuronal de las regiones del sistema límbico de las ratas con OBX de las cepas Wistar y SD.

**Figura 13.** Cuantificación de la proliferación celular en las neuronas del GD de ratas con OBX adultas en las cepas Wistar y SD.

## ÍNDICE DE IMÁGENES

**Imagen 1.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de las subregiones del giro dentado (GD), CA1 y CA2 del hipocampo dorsal de la cepa Wistar (20x).

**Imagen 2.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de las subregiones del giro dentado (GD), CA1 y CA2 del hipocampo dorsal de la cepa SD (20x).

**Imagen 3.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de corteza prefrontal (CPF), amígdala basolateral (BLA) y núcleo reticular (RT) de la cepa Wistar (20x).

**Imagen 4.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de corteza prefrontal (CPF), amígdala basolateral (BLA) y núcleo reticular (RT) de la cepa SD (20x).

**Imagen 5.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de Ki67 del GD del hipocampo dorsal de las cepas Wistar y SD (10x).

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** *Tabla comparativa entre diferentes modelos biológicos de depresión.*

**Tabla 2.** *Tipos de variables experimentales.*

## ABREVIATURAS

°C: grados Celsius.

5HT: 5-Hidroxitriptamina, serotonina.

ACe: amígdala central.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AMe: amígdala medial.

ARNm: ácido ribonucleico mensajero.

ATV: área tegmental ventral

BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro.

BLA: amígdala basolateral.

BO: bulbo olfatorio.

BrdU: Bromo-2-desoxiuridina.

CA1-4: *cornu ammonis* (asta de Amón).

CCSV: canales de calcio sensibles al voltaje

CEnt: corteza entorrinal.

CPF: corteza prefrontal.

CPir: corteza piriforme.

CPN: células progenitoras neurales.

CS: colateral Schaeffer

D1-2: receptores de dopamina.

DA: dopamina.

DAB: Diaminobencidina.

DDM: desorden depresivo mayor.



FM: fibras musgosas  
FRS: factor de respuesta sérica  
GD: giro dentado.  
GET: gen de expresión temprana.  
HPA: eje hipotalámico-pituitario-adrenal.  
LCE: laberinto de cruz elevado.  
M: concentración molar.  
NAcc: núcleo accumbens.  
NE: noradrenalina.  
NMDA: ácido N-metil-D-aspártico  
OBX: bulbectomía olfatoria bilateral.  
PBS: buffer de fosfatos.  
PCA: prueba de campo abierto.  
PVI: pálido ventral lateral  
PVm: pálido ventral medial  
RT: núcleo reticular talámico.  
SD: Sprague Dawley.  
Sham: cirugía falsa, grupo control.  
SNC: sistema nervioso central.  
SNc: sustancia negra compacta  
SNr: sustancia negra reticulada  
VP: vía perforante  
VRM: vía rostral migratoria.  
ZSG: zona subgranular.  
ZSV: zona subventricular.

## **CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO**

### **1. Actividad neuronal**

Las neuronas son las principales células del sistema nervioso, que posee la capacidad de recibir y decodificar información en forma de señales eléctricas y químicas, transmitiéndolas a otras células. Una neurona presenta cuatro regiones morfológicamente definidas: 1) cuerpo celular, 2) dendritas, 3) axón y 4) terminales axónicas<sup>1</sup>. El cuerpo o soma es el centro metabólico de la célula y es el origen de las prolongaciones de las dendritas y el axón. Las dendritas se ramifican como un árbol y su función principal es la recepción de señales procedentes de otras neuronas. Mientras, el axón es la unidad de conducción de señales eléctricas a otras neuronas, denominadas potencial de acción, son impulsos nerviosos rápidos, fugaces, con una amplitud de 100 mV y con una duración aproximada de 1 ms. Los potenciales de acción constituyen las señales mediante las cuales el cerebro recibe, analiza y transmite información<sup>1</sup>.

La unión de varias neuronas forma circuitos neuronales, que se remodelan o presentan plasticidad en respuesta a diferentes estímulos. La plasticidad cerebral inducida por la actividad neuronal permite al cerebro adaptarse a condiciones cambiantes, como en el desarrollo, el aprendizaje o después de padecer alguna lesión<sup>2</sup>.

#### **1.1. Respuesta al estrés y entornos novedosos**

Todos los sistemas fisiológicos vitales del cuerpo están programados de forma inherente, para conservar una homeostasis, que es esencial para la vida y el bienestar<sup>3,4</sup>. Sin embargo, el equilibrio se puede afectar por factores estresantes o estrés.

El estrés es definido como un estado de desarmonía (alostasis) y se contrarresta con una serie de respuestas fisiológicas que buscan mantener la homeostasis alterada (Fig.1)<sup>3</sup>. La respuesta al estrés esta mediada por una infraestructura neuroendocrina, celular y molecular (sistema de estrés), que se encuentra tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en la periferia<sup>3,4</sup>. La

respuesta adaptativa al estrés de cada individuo está determinada por varios factores (genéticos, ambientales y de desarrollo) <sup>5</sup>.

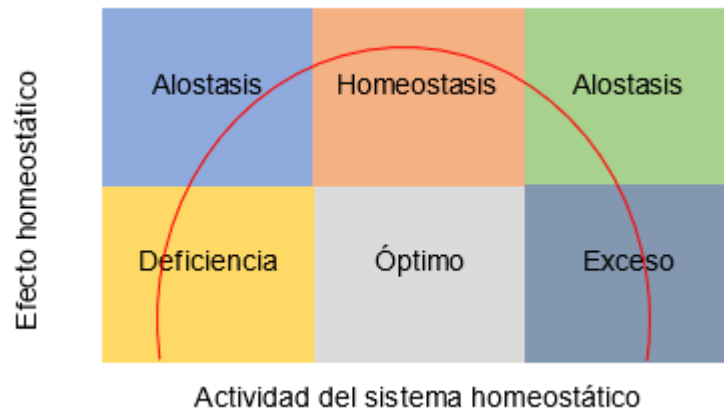
La activación del sistema de estrés agudo desencadena una serie de cambios conductuales y físicos a corto plazo, los cuales se definen como *síndrome de estrés* <sup>3</sup>. Dentro de los cambios de la conducta se produce una mayor excitación, aumento del estado de alerta, vigilancia, cognición, atención enfocada y analgesia; aunque también se observa una inhibición concurrente de otras funciones, como alimentación y reproducción. Dentro de los cambios físicos podemos encontrar una redirección de los recursos energéticos y corporales, incrementos en el tono cardiovascular, la frecuencia respiratoria y el metabolismo intermedio (gluconeogénesis y lipólisis) <sup>5</sup>.

Estos patrones se refieren a las clases de estimulación externa donde el animal tiene conocimiento (innato o adquirido), comúnmente la presencia de estímulos novedosos da como resultado una cascada de respuestas neuronales y conductuales, las cuales despiertan fuertemente la atención animal, manifestando una mayor exploración del estímulo <sup>6</sup>.

Es importante distinguir entre dos propiedades que tiene un organismo en respuesta a estímulos: 1) la *novedad*, que es una propiedad del estímulo que no se ha experimentado antes, y 2) la *notoriedad*, una propiedad de esos estímulos que atraen la atención del individuo <sup>7</sup>.

En presencia de estímulos novedosos se pueden observar dos estados en el animal, curiosidad y miedo; la conducta consiguiente resulta de la competencia entre estos dos. Un estado de curiosidad se caracteriza por un aumento en la exploración. Mientras, el estado de miedo se manifiesta con un proceso de inmovilidad del animal <sup>8</sup>. Estos estados provocados por la novedad suelen disminuir con respecto al tiempo y el número de exposiciones que pudiera presentar el animal, llevando a un estado de habituación <sup>9</sup>. La sensación generada por la exposición repetida de un estímulo es conocida como familiaridad, esta familiaridad junto con la novedad contribuyen a la memoria de reconocimiento <sup>10</sup>.

Es sustancial entender que los términos "familiaridad" y "novedad" son por definición contrarios, por lo tanto, se sabe que los sustratos neuronales sensibles a la detección de ambos estímulos no se superponen por completo, esta idea es respaldada por estudios de actividad neuronal individual con animales experimentales <sup>11, 12</sup>.

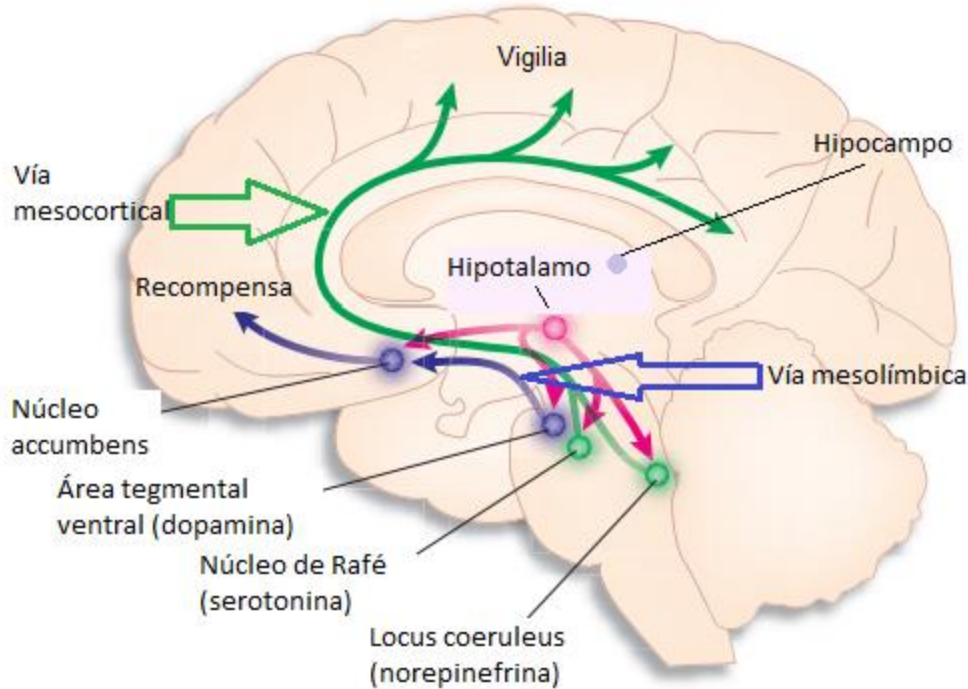


**Figura 1.** Los sistemas homeostáticos ejercen sus efectos en una curva de U de dosis-respuesta invertida. La homeostasis está en el rango medio de la curva. Los efectos subóptimos pueden estar a ambos lados de la curva y pueden conducir a una adaptación subóptima, denominada alostasis o, más correctamente, cacostasis, que puede ser perjudicial para el organismo a corto o largo plazo. Tomada y modificado de Chrousos, 2009 <sup>3</sup>.

## 1.2. Regiones involucradas en el procesamiento del estrés y la novedad

En la actualidad se sabe que existe una estrecha relación entre el sistema del estrés y el sistema de recompensa (dopaminérgico mesolímbico) (Fig. 2) <sup>3</sup>. Con estudios de neuroimagen, se identificó la activación de diferentes regiones cerebrales durante la presentación de estímulos nuevos y familiares, por lo que su patrón de actividad presentó la existencia de regiones sensibles tanto a la novedad como a aquello que es familiar, indicando que estas regiones parecen interactuar y converger en sitios que son claves para el cerebro <sup>13</sup>. Por un lado, se sabe que el sistema de novedad involucra regiones cerebrales a lo largo del flujo visual ventral, el hipocampo y las cortezas perirrinal y parahipocampal. Mientras el sistema de familiaridad, involucra el núcleo talámico dorsomedial y regiones dentro de la corteza prefrontal media y la corteza parietal media y lateral <sup>13</sup>. Después, de un

estímulo estresante, ambos sistemas actúan a través de vías neuronales específicas para modificar la actividad del sistema de estrés.



**Vía dopaminérgica**

Funciones

- Recompensa (motivación)
- Placer, euforia
- Función motora
- Compulsión

**Vía serotoninérgica**

Funciones

- Estado de ánimo
- Procesamiento de la memoria
- Sueño
- Cognición

**Figura 2.** Corte transversal a través del cerebro que muestra las vías mesolímbica y mesocortical y sus principales funciones. Tomada y modificada de Scammell y Saper, 2007<sup>14</sup>.

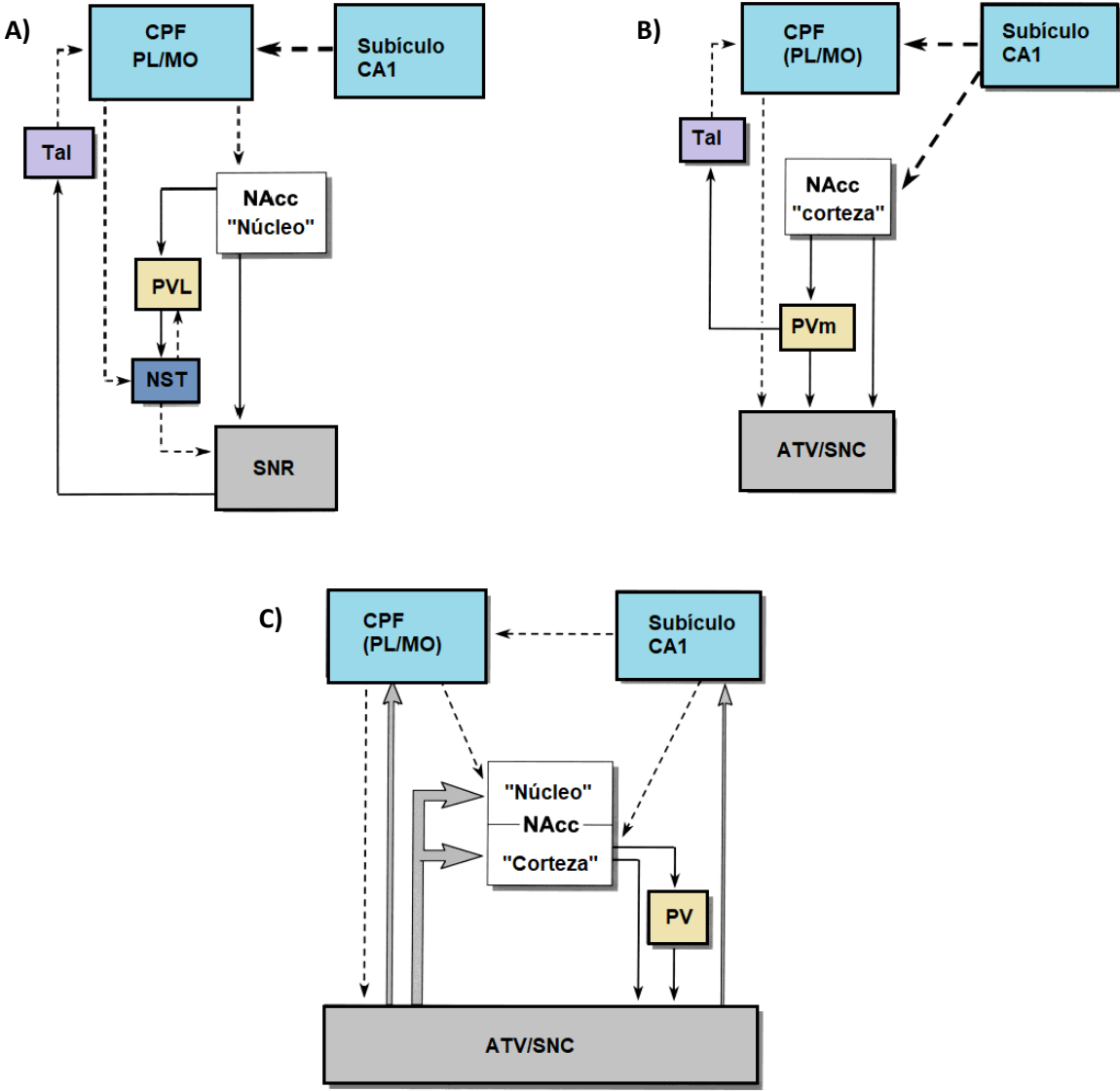
### 1.2.1. Corteza prefrontal

La corteza prefrontal (CPF) es una gran extensión de tejido cerebral que puede subdividirse en múltiples áreas anatómicas y funcionalmente distintas<sup>15</sup>, está involucrada en funciones cognitivas superiores, definidas como la capacidad de

mantener y usar la representación mental para el comportamiento dirigido a objetivos <sup>16</sup>. Esta estructura contribuye al ordenamiento temporal de eventos espaciales y no espaciales, y a la organización y planificación de respuestas <sup>16</sup>. Asimismo, la CPF desempeña un papel importante en la emoción, se considera que la disfunción de la CPF se ha implicado en la etiología de casi todos los trastornos afectivos, incluida la depresión <sup>15</sup>.

No obstante, la CPF de la rata no se considera una estructura homogénea, por lo que han identificado diferentes áreas a partir de criterios arquitectónicos, conexiones con distintos segmentos del núcleo mediodorsal talámico, y las distintas relaciones anatómicas con estructuras corticales y subcorticales <sup>17, 18</sup>. Debido a las relaciones anatómicas y su activación durante las tareas de memoria de trabajo, la CPF y el hipocampo se encuentran funcionalmente asociadas, además gracias a sus conexiones, la CPF es considerada un puente entre el hipocampo y las regiones neocorticales <sup>16</sup>. Tanto la CPF como el hipocampo inervan el núcleo accumbens (NAcc), una estructura principal del cuerpo estriado ventral, que desempeña un papel esencial en la integración de la información de las regiones límbicas y corticales en los comportamientos dirigidos a objetivos <sup>19</sup>. A su vez, el NAcc se proyecta hacia el pálido ventral, la sustancia negra, el hipotálamo y varias áreas mesencefálicas, y parece actuar como una interfaz entre los sistemas límbico y motor (Fig. 3 A-B) <sup>20</sup>. Por otra parte, la CPF, el hipocampo y el NAcc reciben aferencias dopaminérgicas procedentes del mesencéfalo ventral (Fig. 3 C) <sup>19</sup>.

Por último, la presencia de estresores agudos o crónicos son capaces de incrementar la concentración extracelular de la noradrenalina (NE) y la dopamina (DA) en varias regiones del cerebro, lo que indica que el estrés en efecto puede provocar una activación generalizada de las neuronas catecolaminérgicas, especialmente aquellas que mandan información a la CPF <sup>21</sup>.



**Figura 3.** Representación esquemática de la corteza prefrontal y su relación con diferentes áreas. CPF-"núcleo" y circuitos de ganglios basales relacionados (A). CA1/subículo-"corteza" y circuitos relacionados (B). Relación entre el hipocampo, la corteza prefrontal, el núcleo accumbens y las neuronas dopaminérgicas del complejo tegmental ventral/sustancia negra (C). Las líneas discontinuas y continuas representan las vías glutamatérgicas y GABAérgicas. Las líneas grises representan las vías dopaminérgicas. NAcc, núcleo accumbens; PL/MO, áreas orbitales preolímpica/medial; SNr, sustancia negra reticulada; SNC, sustancia negra compacta; STN, núcleo subtalámico; Tal, tálamo; PVL, pálido ventral lateral; PVM, pálido ventral medial; ATV, área tegmental ventral. Tomado y modificado de Thierry y col, 2000 <sup>16</sup>.

### 1.2.2. Amígdala

La amígdala constituye el área principal del SNC para las conductas relacionadas con el miedo y su activación es importante tanto para la recuperación y el análisis emocional de toda la información almacenada por cualquier factor estresante <sup>22</sup>. Distintos estudios en humanos han mostrado que la intensidad de activación de la amígdala durante la detección de la novedad se correlaciona positivamente con el estado de ansiedad <sup>22, 23</sup>.

Los estímulos novedosos aumentan la actividad de la corteza visual, la amígdala representa una región para la activación vertical de la corteza visual para eventos novedosos, debido a su discriminación de novedad <sup>24</sup>. Diversos estudios en humanos han revelado que la amígdala responde a estímulos novedosos, como rostros humanos o sonidos novedosos <sup>25-28</sup>.

Estudios en animales, específicamente en ratas, se ha observado que la amígdala de igual forma se activa en estados de miedo, como los inducidos por el comportamiento pavloviano y por estímulos novedosos <sup>23</sup>. La capacidad de respuesta a nuevos estímulos puede ser en forma de acercamiento o abordaje (neofilia) o evitación (neofobia) dependiendo del grado de novedad generado <sup>29-32</sup>.

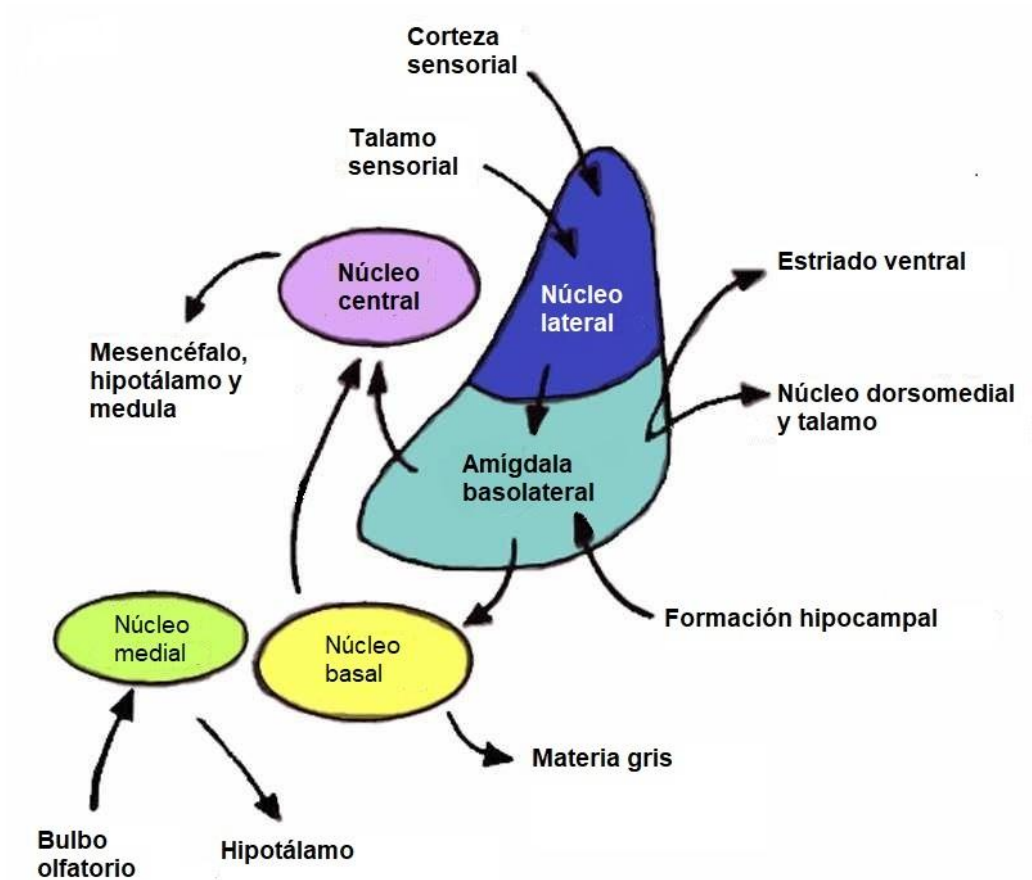
Se ha demostrado que lesiones en las estructuras del complejo amigdaloides aumenta la preferencia a objetos novedosos en ratones, disminuyendo la neofobia en entornos novedosos en comparación con los ratones control <sup>33</sup>. A pesar de la relación directa entre la amígdala y la reducción del miedo, la amígdala puede intervenir en otras funciones como la memoria y el olfato <sup>34, 35</sup>.

Dentro de los núcleos de la amígdala, encontramos que la amígdala basolateral (BLA), es considerada una estructura reguladora del estrés, la BLA recibe información sensorial del tálamo, el hipocampo y la corteza, y luego modula la transmisión sináptica en las áreas objetivo apropiadas para la señal de refuerzo con la que se ha asociado la información sensorial, se cree que las proyecciones de la BLA son en gran medida intra-amigdalares, ya que la BLA anterior inerva



ampliamente la amígdala central (ACe) y la amígdala medial (AMe), siendo éstas sus principales núcleos de salida (Fig. 4) <sup>32, 36</sup>.

Otra de las regiones involucradas es el hipocampo, el cual presenta un efecto inhibitor tónico y de estimulación sobre la actividad de la amígdala y los sistemas simpáticos PVN Y LC/NE <sup>24</sup>.



**Figura 4.** Complejo amigdalóide que muestra el núcleo central, basolateral, lateral y medial de los roedores. Tomada y modificada de Salm y col. 2004 <sup>37</sup>.

### 1.2.3. Hipocampo

El hipocampo es una de las regiones más importantes en la memoria, el aprendizaje y la habituación en entornos novedosos<sup>9</sup>. Para fines descriptivos, se divide en una porción dorsal justo detrás del septum, donde comienza a doblarse ventral y lateralmente, y una porción ventral que se encuentra en la parte temporal del cerebro<sup>38</sup>.

En general, el hipocampo dorsal es importante para el procesamiento de la información espacial, de memoria y aprendizaje, mientras que la actividad del hipocampo ventral puede predominar durante los estados de miedo o ansiedad, en donde recibe información negativa como respuesta a los glucocorticoides circulantes del eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal a su centro hipotalámico y núcleo paraventricular<sup>3, 39</sup>.

El hipocampo y la circunvalación dentada están compuestos por tres capas, la capa más externa es la *capa molecular* y contiene axones aferentes y dendritas de las células intrínsecas de cada estructura. La capa media, denominada *capa granular* en la circunvalación dentada y la *capa piramidal* en el hipocampo, contiene las neuronas eferentes de cada estructura<sup>38</sup>.

El hipocampo puede dividirse en cuatro regiones a partir de diversos criterios citoarquitectónicos. Estas áreas se designan como CA1 a CA4, donde CA significa *cornu ammonis* (asta de Amón)<sup>38</sup>. El área CA1 (una región paraventricular que puede dividirse en dos capas celulares en los seres humanos) se localiza en el límite entre el subículo y el hipocampo, el área CA2 (una zona mixta) y el área CA3 (zona magnocelular) están situadas dentro del hipocampo, por último, el área CA4 se encuentra en la unión del hipocampo con la circunvalación dentada, pero dentro del hilio de esta última<sup>38</sup>.

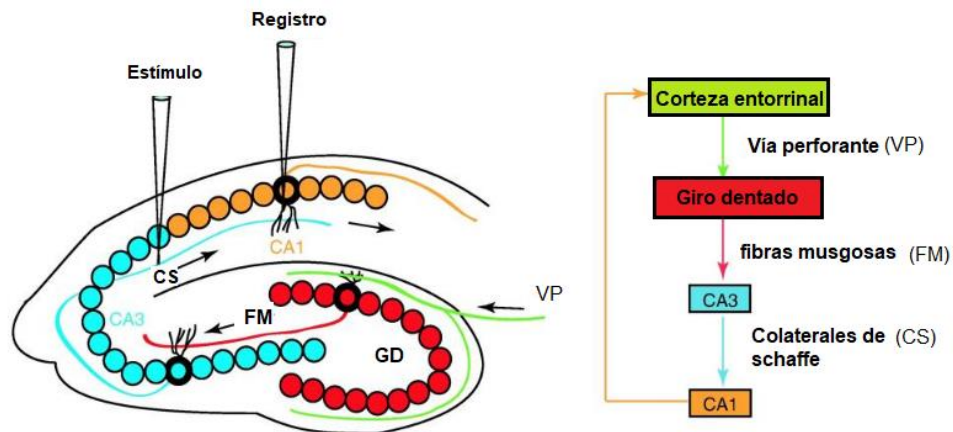
El tráfico de la información dentro del hipocampo inicia a partir de la corteza entorrinal (CEnt), la cual funciona como una puerta de entrada anatómica a través de la cual la mayoría de la información procesada corticalmente es presentada al hipocampo, esta información se transmite a través de las conexiones

monosinápticas directamente a las neuronas CA1 procedentes de la capa tres de la CEnt o a las neuronas CA3 procedentes de la capa dos de la CEnt <sup>40, 41</sup>. Además, las neuronas CA1 presentan información cortical (originada principalmente de la capa dos de la CEnt) previamente procesada por el giro dentado (GD) y CA3, a través de las conexiones en serie del circuito trisináptico de la formación del hipocampo (Fig. 5) <sup>42</sup>.

En humanos, la disfunción y la disminución del volumen del hipocampo está asociada con trastornos psicológicos con fuertes componentes afectivos, como el trastorno de estrés postraumático, el trastorno bipolar y la depresión <sup>39</sup>. De hecho, la mayoría de los tratamientos farmacológicos para estos trastornos están dirigidos a la función y la fisiología del hipocampo <sup>39</sup>.

Diversos estudios en animales han demostrado que las lesiones del hipocampo atenúan la habituación de las conductas exploratorias <sup>43</sup>. Sin embargo, estos déficits dependen de la localización y extensión de la lesión <sup>44</sup>. Por lo tanto, la novedad está asociada con la actividad neuronal hipocámpal alterada y quizás también con medidas de neuroplasticidad <sup>45</sup>.

Una hipótesis relacionada con el hipocampo es que lleva a cabo la comparación de las experiencias presentes y pasadas (almacenadas) y en consecuencia, dirige la atención y los procesos nemónicos a los aspectos novedosos de la experiencia actual <sup>13</sup>. Esta capacidad de comparación del hipocampo parece plausible dada la convergencia de las vías neurales paralelas por las cuales se presenta información sensorial multimodal al hipocampo <sup>45</sup>.



**Figura 5.** Tráfico de información dentro del hipocampo. El hipocampo forma una red unidireccional con una entrada que surge de la corteza entorrinal formando conexiones sinápticas con el giro dentado (GD) a través de la vía perforante (VP). Los axones provenientes del GD se proyectan hacia las neuronas piramidales CA3 a través de la vía de las fibras musgosas (FM). Los axones de CA3 se proyectan hacia las neuronas piramidales CA1 a través de la vía colateral Schaeffer (CS). Estas neuronas de CA1 envían la información de regreso a la corteza entorrinal. Las neuronas CA3 y CA1 también pueden recibir información directamente desde el camino perforante. Tomada y modificada de Ho y Shen, 2011 <sup>46</sup>.

### 1.3. Marcadores de actividad celular en entornos novedosos

El término de gen de expresión temprana (GET) originalmente fue usado exclusivamente para genes virales, ya que se ha encontrado que estos genes después de una infección viral son los responsables de la reprogramación transcripcional para promover la replicación viral <sup>47</sup>.

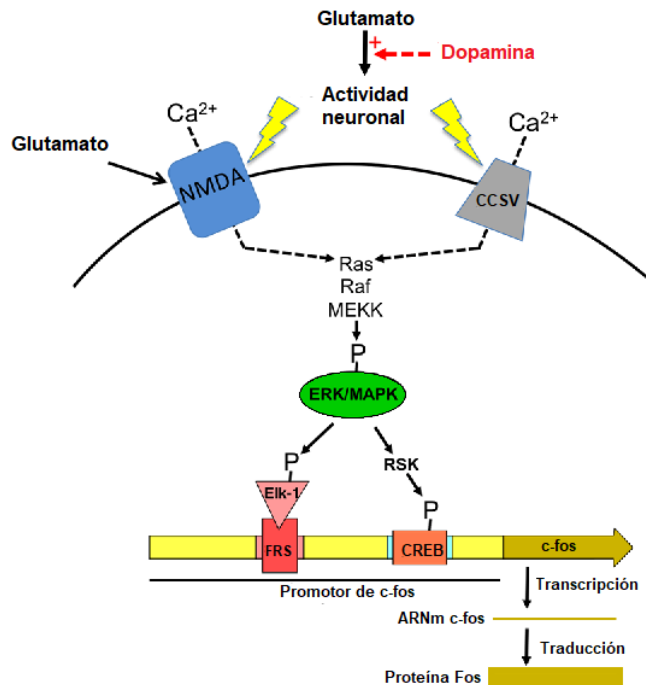
Los homólogos eucariotas de estos protooncogenes retrovirales que se han descubierto y reconocido son los GET celulares, tales como c-fos, c-jun y c-myc, que al igual que sus homólogos virales, muestran una expresión rápida y transitoria en ausencia de síntesis de proteínas *novo* <sup>47</sup>.

Actualmente la expresión de los GET es considerada un marcador del aumento de la actividad cerebral en respuesta a diversos estímulos, estos genes son factores de transcripción que desencadenan la expresión de otros genes responsables de cambios a largo plazo en las neuronas <sup>48</sup>.

Se ha demostrado que la novedad en diferentes pruebas induce la expresión GET, <sup>49</sup>. Asimismo, se ha encontrado que ratas expuestas a un laberinto por primera vez eleva la expresión de c-Fos y c-Jun en varios núcleos del cerebro, incluyendo el hipocampo, partes del estriado y células granulares del cerebelo en comparación con la expresión de estos genes en animales con una exposición repetida (habituaación). En otros estudios donde las ratas fueron expuestas a una prueba de campo abierto se condujo a una expresión del ARNm de c-Fos en hipocampo, corteza visual y bulbos olfatorios en comparación con las ratas control <sup>50</sup>.

### **1.3.1. c-Fos un protooncogén de expresión rápida**

El gen de c-fos se identificó por primera vez en 1980 y su producto se caracterizó hasta 1984 como una proteína nuclear con propiedades de activación génica <sup>51-53</sup>. La proteína de c-Fos tiene un motivo de cierre (hélices alfa en paralelo) de leucina modificado que promueve la dimerización con otros productos oncogénicos, principalmente con los miembros de la familia c-jun <sup>54</sup>. La unión de los dímeros AP-1 al ADN ocurre en un sitio específico denominado dominio de unión al ADN. Por lo tanto, la localización inmunohistoquímica de las proteínas c-Fos o Jun produce un marcaje en el núcleo celular de las neuronas <sup>54</sup>. En general, la cinética de la respuesta de c-Fos a los estímulos agudos es transitoria, presentando un pico máximo de expresión del ARNm de c-Fos de aproximadamente 30 minutos y de la proteína c-Fos entre los 90-120 minutos <sup>55</sup>. La detección de c-Fos se ha utilizado con frecuencia para estudiar los efectos de factores exógenos en la transcripción génica y en la actividad del SNC para mapear las vías neuronales involucradas en diferentes condiciones fisiológicas <sup>56</sup>. La inducción de c-Fos ocurre a través de una variedad de diferentes cascadas de transducción de señales que incluyen descomposición de fosfolípidos, activación de proteinasas C, liberación intracelular de iones de calcio, afluencia de cationes monovalentes, nucleósidos trifosfatos cíclicos y activación de los receptores de hormonas esteroides por la unión del ligando (Fig. 6) <sup>57, 58</sup>.



**Figura 6.** Mecanismos moleculares de la expresión de c-fos y Fos en neuronas activadas. El glutamato es el principal neurotransmisor excitador que aumenta la actividad neuronal. La dopamina mejora (flecha roja y signo +) la activación neuronal mediada por glutamato de la pequeña proporción de neuronas que tienen los niveles más altos de actividad neuronal. La actividad neuronal induce la entrada de  $Ca^{2+}$  a través de receptores de glutamato tipo NMDA y canales de calcio sensibles al voltaje (CCSV) a niveles que son suficientes para fosforilar y activar ERK/MAPK a través de la vía Ras-Raf-MEKK. La activación de ERK/MAPK conduce a la fosforilación de Elk-1 que está asociada con el factor de respuesta sérica (FRS), así como a la fosforilación de CREB a través de la quinasa S6 ribosómica (RSK). Elk1/FRS y CREB son factores de transcripción que, cuando se fosforilan, pueden inducir la transcripción de la secuencia de codificación para c-fos. El ARNm de c-fos transcrito y el producto de la traducción Fos pueden usarse como marcadores de actividad neuronal. Tomada y modificada de Cruz y col., 2015<sup>59</sup>.

## 2. Neurogénesis

La función de la neurogénesis durante el desarrollo embrionario es poblar las diversas regiones del SNC con diferentes tipos de neuronas derivadas de las células progenitoras neurales (CPN) del tubo neural<sup>1</sup>.

Originalmente se creía que la generación de nuevas neuronas funcionales a partir de células madre y precursoras del SNC ocurre estrictamente durante el desarrollo embrionario y posnatal temprano en los mamíferos. Sin embargo, a partir de los trabajos de Joseph Altman en la década de los 60, utilizando la técnica de

autorradiografía con timidina tritiada (*timidina* –<sup>3</sup> *H*) para marcar las células en división, se identificó la existencia de neurogénesis en algunas áreas del cerebro adulto de la ratas y cobayas, específicamente en el bulbo olfatorio y en el GD del hipocampo <sup>60, 61</sup>. No obstante, no fue hasta la década de los 90 que el concepto de neurogénesis funcional comenzó a surgir a partir de las investigaciones de diversos grupos donde se demostró que la neurogénesis persiste en mamíferos superiores como primates y humanos <sup>62-65</sup>.

En condiciones neurodegenerativas y psiquiátricas se ha descrito una neurogénesis hipocampal deteriorada <sup>66</sup>. Por lo tanto, la neurogénesis en el adulto y su relevancia funcional ha sido un tema de gran importancia durante las últimas décadas.

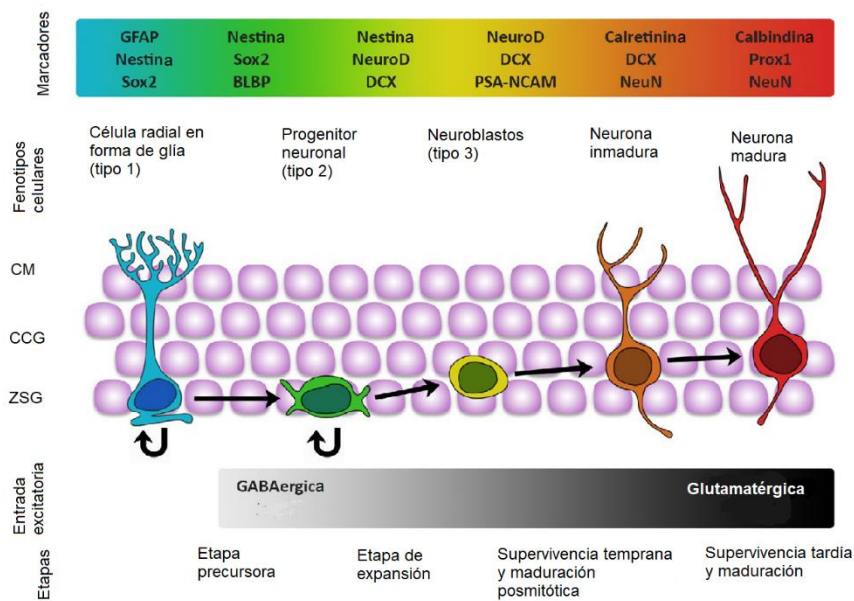
## **2.1. Neurogénesis en el cerebro adulto**

Se ha demostrado en varias especies que durante la etapa postnatal y a lo largo de la vida, en el bulbo olfatorio, GD, posiblemente, en áreas corticales y en la sustancia negra se producen nuevas neuronas <sup>62, 67, 68</sup>. Actualmente, se puede especificar que las áreas con mayor actividad neurogénica son la zona subventricular (ZSV), delimitando los ventrículos y la zona subgranular (ZSG) del GD del hipocampo <sup>69</sup>.

En esas zonas del cerebro adulto de los mamíferos se encuentran dos tipos de células con actividad mitótica: células troncales con un ciclo celular superior a 28 días y CPN con un ciclo celular de 12 horas <sup>70, 71</sup>. Las células troncales tienen la capacidad de autoregeneración y generar CPN. Por otra parte, las CPN pierden su capacidad mitogénica en etapas tempranas y dan origen a neuronas, mientras que en etapas tardías del desarrollo originan astrocitos y oligodendrocitos <sup>70, 72</sup>

La neurogénesis del hipocampo adulto está conformada por varias fases consecutivas de desarrollo que dan lugar a neuronas nuevas: una etapa precursora, supervivencia temprana, maduración postmitótica y supervivencia tardía (Fig. 7) <sup>73</sup>. Durante las etapas precursoras y de expansión, las CPN pasan por tres fases progenitoras continuas caracterizadas por una alta proliferación, seguidas por la etapa de supervivencia temprana cuando las CPN salen del ciclo celular y el número de neuronas recién formadas disminuye significativamente debido a la eliminación,

a continuación, la etapa postmitótica se caracteriza por un crecimiento dendrítico y axonal, sinaptogénesis y el establecimiento de conexiones, por último, la etapa de supervivencia tardía marca la integración de nuevas células granulares en los circuitos existentes y un aumento de la plasticidad sináptica, actualmente se cree que el proceso de madurez neuronal dura alrededor de 7 semanas, con una fase posterior de amplificación en la plasticidad sináptica <sup>73-76</sup>.



**Figura 7.** Representación de las etapas del proceso neurogénico en el hipocampo. Las células radiales (tipo 1; azul) mantienen su agrupación mediante la renovación automática y dan lugar a células progenitoras que expresan marcadores similares pero una morfología diferente (tipo 2; verde). Las células tipo 2 generan neuroblastos (tipo 3; amarillo). Los neuroblastos entran en la etapa de supervivencia temprana (células anaranjadas) y extienden los procesos hacia la capa molecular. Durante la etapa de supervivencia tardía, solo las neuronas que han formado conexiones funcionales y han madurado morfológicamente (células rojas) sobreviven. La barra codificada por colores en la parte superior ilustra la transición gradual en la expresión del marcador a medida que las células progresan a través de las diferentes etapas del proceso neurogénico. La barra de color gris en la parte inferior representa el cambio de neuronas recién nacidas de GABA a la entrada glutamatérgica. CM: capa molecular; CCG: capa de células granulares; ZSG: zona subgranular. Tomada y modificada de Kozareva y col., 2019.



### 2.1.1. Células troncales de la zona subventricular (ZSV)

Durante el desarrollo del cerebro de los mamíferos, la zona ventricular es la encargada de la neurogénesis. Las neuronas que proliferan en la zona ventricular migran a todas las estructuras del cerebro, a finales del desarrollo embrionario se origina otra capa germinativa, la ZSV, en el cerebro adulto desaparece la capa ventricular germinativa y se conserva solamente la proliferación en la ZSV <sup>75</sup>. Las nuevas neuronas generadas en ambas regiones migran a través de la vía rostral migratoria (VRM) hacia el bulbo olfatorio (BO), donde se pueden diferenciar en dos tipos de interneuronas: células granulares y periglomerulares <sup>60, 77, 78</sup>. Se estima que la tasa de neurogénesis en la ZSV del cerebro adulto es de aproximadamente 30 000 neuronas granulares nuevas por BO, lo que representa el 1% de la población de células granulares olfatorias por día <sup>79</sup>.

Los neuroblastos provenientes de la ZSV entran en la VRM formando una cadena, a través de un tubo formado por astrocitos, los cuales secretan factores de crecimiento que favorecen el proceso de migración <sup>80, 81</sup>. Después de que las neuronas llegan al núcleo del BO se pueden diferenciar en distintas interneuronas <sup>80</sup>. La mayoría madura en células granulares GABAérgicas, que carecen de axones y forman sinapsis dendríticas con células mitrales y en penacho, el resto madura en periglomerulares dopaminérgicas, mientras que algunas son neuronas yuxtglomerulares glutamatérgicas <sup>77, 82-84</sup>. Ambos tipos de células solo hacen contacto de manera local en el bulbo, modulando directa o indirectamente el procesamiento de la información sensorial por las neuronas de proyección del BO, las células mitrales y en penacho <sup>80, 82, 85</sup>.

### 2.1.2. Células troncales del hipocampo

Las células troncales del hipocampo se generan en la ZSG y dan origen a las células gliales y neuronas en la capa granular del GD <sup>76, 85</sup>. Dentro de las células que integran a las ZSG se encuentran: *astrocitos radiales* (células B,  $GFAP^+$ ) localizados en la parte más interna de la cara hacia el hilus, *células precursoras* (células D,  $PSA - NCAM^+$ ,  $GFAP^-$ ) y *nuevas neuronas granulares* (células G,  $PSA - NCAM^+$ ) con características electrofisiológicas de neuronas diferenciales, en estudios

animales se ha observado que estas neuronas tienen la capacidad para integrarse a redes neuronales existentes <sup>84, 86</sup>.

Estas células de la ZSG presentan todas las características de las neuronas maduras del SNC, es decir, sin capacidad mitótica, con axones y dendritas, presentan potencial de acción en respuesta a estímulos sinápticos excitatorios e inhibitorios y con capacidad de liberar neurotransmisores en respuesta a potenciales de acción <sup>87</sup>.

En ratas se estima que aproximadamente 250 000 nuevas neuronas se incorporan cada mes en el GD, equivalente al 6% de la población neuronal de esta estructura <sup>88</sup>. Estudios con marcadores neuronales retrógrados han demostrado que estas nuevas neuronas granulares envían proyecciones a la región CA3 del hipocampo, tres semanas después de la mitosis <sup>84, 89</sup>.

A diferencia de las neuronas generadas en la SZV, las neuronas provenientes del GD son especializadas, puesto que, las CPN generan células granulares glutamatérgicas, mientras que en la ZSV, las CPN heterogéneas dan lugar a diferentes subtipos de neuronas olfativas que posteriormente se integran al BO <sup>90</sup>. En humanos adultos, la comparación entre la neurogénesis de la ZSG y ZSC revela que existe una actividad neurogénica mayor en el GD que en BO <sup>90, 91</sup>.

## **2.2. Factores que regulan la neurogénesis**

La neurogénesis es un evento dinámico, por lo tanto, está modulado y regulado por diversos factores como el nicho y los factores internos y externos, donde se encuentran neurotransmisores, factores de crecimiento, neurotróficos, hormonas, la actividad física, factores epigenéticos y el aprendizaje <sup>66, 73, 92-94</sup>.

Los factores internos incluyen algunos factores de crecimiento como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el cual tienen un efecto regulador en la neurogénesis adulta, la proliferación y la diferenciación de los neuroblastos, además de que participa como un protector del daño neuronal o como inductor durante la generación y diferenciación de nuevas células que reemplazan las lesionadas <sup>95-98</sup>. Los neurotransmisores que participan en la regulación de la neurogénesis en el

cerebro adulto son glutamato, serotonina (5-HT), noradrenalina y dopamina <sup>66, 68</sup>. Asimismo, se ha encontrado que el agotamiento de 5-HT y noradrenalina reduce la proliferación celular y el número de células inmaduras en el hipocampo <sup>99-101</sup>. Por otra parte, GABA promueve el crecimiento dendrítico, la formación de sinapsis y la supervivencia de las neuronas recién nacidas a través de la señalización de CREB <sup>102</sup>.

Con respecto a los factores externos, se sabe que la actividad física, aumenta de manera sólida la proliferación de células precursoras en el hipocampo (pero no en el BO) <sup>103</sup>, por el contrario estímulos estresantes disminuyen la neurogénesis a través de un aumento de las concentraciones de glucocorticoides <sup>104</sup>, los cuales pueden influir en la proliferación, la diferenciación y la supervivencia neuronal <sup>105-107</sup>.

### **2.3. Marcadores de neurogénesis y supervivencia neuronal**

Ante la necesidad de poder comprender el proceso de la neurogénesis se desarrollaron distintas técnicas que permiten tener un seguimiento de dicho proceso, uno de los métodos principales para estudiar la neurogénesis ha sido a través de inyecciones de  *timidina -<sup>3</sup>H* o  *bromo-2-desoxiuridina (BrdU)* <sup>108</sup>. El método consiste en inyecciones intraperitoneales de BrdU seguido de un tiempo variable para rastrear el destino de las células divididas y su progenie <sup>109</sup>. Al final del experimento, el animal es sacrificado y sus tejidos son fijados con paraformaldehído, la detección de BrdU se puede hacer mediante anticuerpos primarios específicos, estos anticuerpos primarios se marcan con un anticuerpo secundario etiquetado con un compuesto fluorescente o con un sustrato para diaminobencidina (DAB) <sup>110, 111</sup>. El BrdU es un análogo de la base timidina, lo que permite su sustitución y garantiza el etiquetado únicamente de las células en división <sup>109</sup>. Aunque tiene gran utilidad, el BrdU presenta varias limitaciones como la posibilidad de producir mutaciones celulares y por consiguiente anomalías severas <sup>112</sup>.

Debido a estos inconvenientes, se ha propuesto como un método alternativo el uso de Ki67, una proteína nuclear que está asociada con la proliferación de

células somáticas y que puede localizarse a través de inmunohistoquímica <sup>113</sup>. Durante la mitosis Ki67 ha mostrado tener interacción con una proteína motora similar a la cinesina, Hklp2 <sup>114</sup>. Esta interacción contribuye a la formación y el mantenimiento del huso mitótico convirtiéndolo en un excelente marcador para determinar la proliferación de una población celular <sup>113, 115</sup>.

## **2.4. Neurogénesis en los trastornos del estado de ánimo**

La neurogénesis es importante para algo más que una función fisiológica del cerebro, alteraciones en la neurogénesis se han asociado a modelos biológicos con varias enfermedades neuropsiquiátricas <sup>90, 116</sup>.

### **2.4.1. Depresión**

El desorden depresivo mayor (DDM) es un trastorno mental grave con un alto riesgo de suicidio y una prevalencia de por vida de 15 a 18%, que disminuye severamente la calidad de vida de los pacientes y tiene un gran impacto financiero, como se ha mencionado anteriormente, el estrés tiene un papel importante en la neurogénesis, siendo éste uno de los principales factores de riesgo para el DDM <sup>5, 117</sup>. El DDM se diagnostica con base a un grupo de síntomas altamente variables (DSM-IV). Además del estado de ánimo deprimido o irritable, la depresión incluye síntomas cognitivos (culpa, reflexiones, tendencias suicidas), síntomas emocionales (anhedonia), síntomas homeostáticos o "neurovegetativos" (por ejem., anormalidades en el sueño, apetito, peso, energía), incrementos de corticosterona y agitación psicomotora o retraso <sup>117-121</sup>. Hay datos clínicos significativos que demuestran que personas con depresión presentan problemas de aprendizaje, memoria declarativa y déficits cognitivos, además de observarse a través de resonancia magnética una reducción en el volumen del hipocampo <sup>122-124</sup>. Estos cambios volumétricos pueden deberse a aumento en la apoptosis neuronal o una disminución en la neurogénesis <sup>125</sup>. Numerosos antidepresivos, de distintas clases, entre ellos los inhibidores de la recaptación de monoamina, los tricíclicos, el choque electroconvulsivo y los inhibidores de la fosfodiesterasa, aumentan específicamente la neurogénesis del hipocampo en los roedores <sup>126, 127</sup>.

Entender la fisiopatología de desórdenes del estado de ánimo se ha vuelto un reto para la ciencia, aunque casi todos los tratamientos antidepresivos aumentan la neurogénesis del hipocampo, faltan los sustratos farmacológicos subyacentes a la regulación de este proceso. Por lo que se espera que a través del uso de diversos modelos biológicos se puedan encontrar alternativas en el desarrollo de tratamientos más eficientes para el DDM.

### **3. Modelos biológicos para el estudio de trastornos mentales**

En neurobiología un modelo animal se define como una herramienta útil para investigar el comportamiento normal y anormal de una enfermedad de una enfermedad relacionada con el sistema nervioso <sup>128</sup>. Los modelos animales deben derivarse de factores de riesgo plausibles o agentes causales de enfermedades humanas o, de lo contrario, exhibir un grado patológico neuronal o conductual significativo que corresponda a una enfermedad humana <sup>128</sup>. En 1969 McKinney y Bunney propusieron cuatro criterios de validez de un modelo animal (la misma etiología, los mismos síntomas, la misma respuesta a los tratamientos y la misma bioquímica), estableciendo que para el desarrollo de un modelo animal de depresión debía presentarse una conducta similar a los síntomas observados en los pacientes con depresión, los cambios conductuales en el animal deben medirse objetivamente y por último, estos cambios conductuales deben revertirse con cualquier tratamiento efectivo para la depresión (antidepresivos, choque electroconvulsivo, privación del sueño, etc.) <sup>129</sup>.

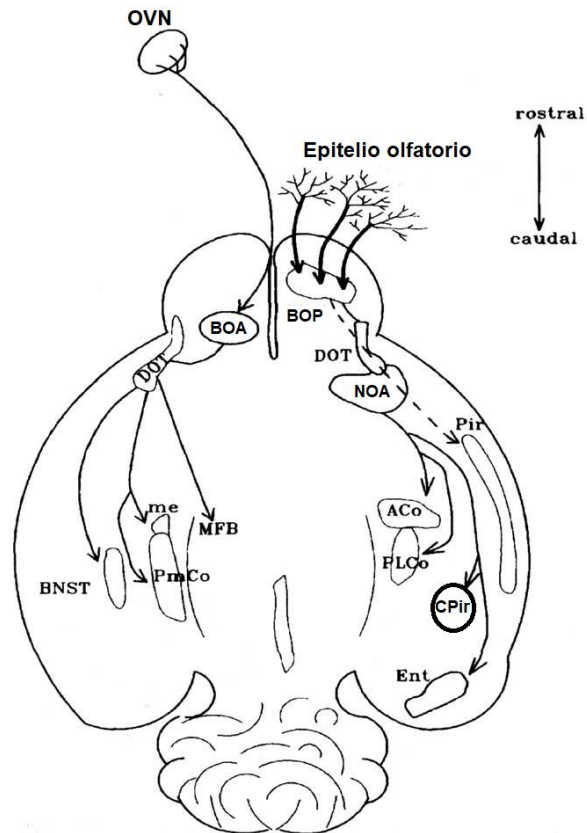
Desde el descubrimiento de los antidepresivos hace 55 años se ha buscado desarrollar modelos animales de depresión que permitan evaluar la actividad antidepresiva de nuevos compuestos y que cumplan con los criterios previamente establecidos (validez de constructo, aparente y predictiva) <sup>130</sup>. A pesar de que se ha descrito, a través de estudios de imágenes cerebrales el circuito neuronal del estado de ánimo basado en una gran cantidad de trastornos neuroquímicos y neuroendocrinos en pacientes deprimidos, ninguna anomalía ha demostrado ser lo suficientemente robusta o consistente para diagnosticar la depresión en humanos o validar un modelo animal <sup>131</sup>.

### **3.1. Anatomía del sistema olfatorio de la rata**

El sistema olfatorio de los vertebrados está diseñado para discriminar una gran variedad de moléculas olorosas de diferentes formas y tamaños que se encuentran en el medioambiente. La capacidad de discriminación del sistema olfatorio depende del procesamiento de la información sensorial a través de diferentes estructuras anatómicas: el epitelio olfativo de la nariz, donde las neuronas sensoriales olfativas detectan olores; el BO del cerebro, al cual estas neuronas transmiten señales; y estructuras de orden superior del cerebro, como la corteza piriforme, que reciben información del BO y la distribuyen a otras regiones del cerebro <sup>34</sup>.

Los BO son extensiones bilaterales del telencéfalo rostral que representan aproximadamente el 4% de la masa cerebral total en la rata adulta, debido a sus extensas conexiones eferentes con regiones cerebrales mesocorticales y subcorticales <sup>130</sup>. Estos albergan dos estructuras separadas: el BO principal y accesorio, el BO principal recibe información de las células receptoras olfativas del epitelio olfativo que reside en el tercio caudal de la cavidad nasal <sup>132, 133</sup>. El BO accesorio tiene aferencias provenientes del órgano vomeronasal, una estructura en forma de tubo que se encuentra en la línea media ventral de la cavidad nasal anterior <sup>132, 133</sup>.

El BO principal está compuesto por seis capas de células divididas en una capa interna y externa. Los glomérulos, las células en penacho y mitrales en los bulbos olfatorios se comunican a través del tracto olfatorio lateral hacia el núcleo olfativo anterior, con la corteza (piriforme, entorrinal y parahipocampal), la amígdala y el núcleo del lecho del estriado terminal a través de neurotransmisores y proyecciones <sup>34, 133</sup>. Por otra parte, el BO accesorio se proyecta a dos regiones separadas de la amígdala: el núcleo medial y la división posteromedial del núcleo cortical (Fig. 8) <sup>133</sup>.



**Figura 8.** Diagrama de las conexiones anatómicas entre los bulbos olfatorios y otras regiones del cerebro de la rata. NOA, núcleo olfativo anterior; CPir, corteza piriforme; DOT, tracto olfativo dorsal; CEnt, corteza entorrinal; OVN, órgano vomeronasal; me, núcleo medial del núcleo amigdaloides; PLCo, núcleo amigdaloides cortical; PmCo, corteza amigdaloides; OVN, órgano vomeronasal. Tomada y modificada de Kelly y col., 1997<sup>134</sup>

### 3.2. La bulbectomía olfatoria bilateral (OBX) como modelo de depresión

La bulbectomía olfatoria bilateral (OBX) es un modelo que ha sido utilizado para la detección de fármacos antidepresivos durante los últimos 40 años<sup>134, 135</sup>. La OBX es un procedimiento por el cual se eliminan los BO de la rata sin dañar la CPF a través de una microcirugía estereotáxica, la ablación de los BO no solo resulta en una anosmia, causando una serie de cambios cognitivos y conductuales anormales, incluyendo reducción de las interacciones sociales, déficits de la memoria espacial, hiperlocomoción, anhedonia e irritabilidad, además de cambios endocrino, inmunes y de neurotransmisores, imitando los síntomas observados en los pacientes con DDM<sup>130, 136-139</sup>. En la actualidad, el modelo OBX se utiliza para el entendimiento de

diversos trastornos mentales. Particularmente, es considerado un modelo ideal para el estudio de la depresión debido a la validez aparente, de constructo y predictiva que presenta <sup>130, 140</sup>, en comparación con otros modelos, la OBX es un modelo con gran validez aparente con el trastorno depresivo humano, especialmente la depresión agitada <sup>139</sup> (Tabla 1).

Capurso y col., <sup>141</sup>, describieron que la OBX causa una muerte transináptica de aproximadamente 55,000 neuronas en la corteza piriforme (CPir) de las ratas debido a la desaferentación transneuronal, esta muerte inicia 14 horas después de la cirugía y alcanza un pico máximo a las 20 horas. Este proceso de muerte neuronal desencadena una disminución de la actividad enzimática antioxidante llevando a un incremento de especies reactivas de oxígeno y citoquinas proinflamatorias en las regiones que tienen un íntimo contacto con los BO <sup>138, 142, 143</sup>.

Estas alteraciones provocan una degeneración en distintas regiones involucradas en la depresión, como el hipocampo, la CPF, el locus coeruleus, los núcleos dorsales del rafe y la amígdala; cabe mencionar que de forma paralela se produce un agrandamiento de los ventrículos laterales <sup>134, 144, 145</sup>, estos cambios degenerativos inducen una disminución en la densidad dendrítica de CA1, CA3, GD y en la neurogénesis del hipocampo, además de bajar la concentración de los niveles de noradrenalina y 5-HT en el cerebro <sup>130, 137, 146</sup>, no obstante, existe un aumento de las concentraciones GABA en la amígdala <sup>147</sup>; cabe recordar que una de las estructuras compuesta en su totalidad de neuronas GABAérgicas es el núcleo reticular talámico (RT), el cual es un derivado del tálamo ventral y juega un papel crítico en la modulación de la transferencia de información que va a la corteza cerebral a través del tálamo <sup>148, 149</sup>.



Modelos biológicos	Validez aparente		Validez de constructo				
	Anhedonia	Actividad motora	Peso	Eje HPA	Neurotrofinas y neurotransmisores	Citoquinas proinflamatorias	Volumen del hipocampo
Estrés crónico	↑	-	↓	↑	↓	↑	↓
Privación materna	↑	-	-	↑	↓	↑	↓
Indefensión aprendida	↑	↑	↓	↑	↓	↑	-
Bulbectomía olfatoria	↑	↑	↓	-	↓	↑	↓
Privación del sueño	↑	↑	↓	↑	↓	↑	↓

**Tabla 1.** Tabla comparativa entre diferentes modelos biológicos de depresión. Donde se muestra la validez aparente y de constructo en cada modelo.

### **3.2.1. Cambios en el sistema límbico de la rata después de la OBX**

La OBX produce la degeneración de muchas áreas, como la CPir, el hipocampo, la amígdala, el locus coeruleus y los núcleos del Rafe dorsal, provocando un proceso de reorganización en estas áreas límbicas y corticales <sup>130, 145, 150</sup>.

El BO recibe una entrada noradrenérgica del locus coeruleus, serotoninérgica del núcleo de Rafe e inervación histaminérgica de regiones magnocelulares del hipotálamo, por lo que al eliminar los BO da como resultado la axotomía de muchas neuronas que residen en estas regiones <sup>133</sup>

Diversos estudios en los que realizaron lesiones en distintos núcleos neuronales mostraron similitudes con lo observado en la OBX, por lo que se ha aceptado una homología en ambas lesiones. Se considera que el déficit de aprendizaje observado en las ratas OBX es similar al observado en modelos con lesiones en BLA <sup>134</sup>.

La OBX produce una gran gama de alteraciones en el cerebro de las ratas, a nivel celular se ha reportado una reducción en el número de sinapsis, espinas y ejes dendríticos en la CPir y CA1 del hipocampo <sup>137, 141</sup>.

### **3.2.2. Cambios de la conducta en dos cepas diferentes después de la OBX**

En los animales los sesgos de conducta se han asociado con respuestas fisiológicas específicas, varios estudios vinculan los rasgos de comportamiento con el estrés diferencial y los procesos inmunológicos <sup>151</sup>. A través de los años, los investigadores han seleccionado una variedad de cepas de roedores bien establecidas (cepas progenitoras), las cuales se ha criado en función de una variedad de rasgos. Sin embargo, se sabe que exhiben diferencias de comportamiento y sesgos fisiológicos, los cuales se han relacionado con la resistencia o susceptibilidad a distintas patologías <sup>151</sup>.

Las diferencias entre cepas no son un descubrimiento reciente, en general estas diferencias se han estudiado en una variedad de pruebas conductuales, incluidas las relacionadas con la emocionalidad, el aprendizaje y memoria <sup>152, 153</sup>.

Es necesario conocer las características de cada cepa. Por ejemplo, las ratas Wistar exogámicas tienen una vida media de 22-30 y 21-28 meses para machos y hembras respectivamente <sup>154, 155</sup>, muestran un fenotipo similar a la ansiedad en varias pruebas de comportamiento, baja cognición espacial y bajo comportamiento social, en pruebas de campo abierto (PCA) comúnmente muestran niveles altos de locomoción y tigmotaxis (movimiento orientado en respuesta a la estimulación de objetos sólidos), en el laberinto de cruz elevado (LCE) pasan un mayor tiempo en las porciones cerradas y oscuras <sup>151</sup>. Las ratas Wistar son muy grandes con frecuencias cardíacas en reposo intermedias y niveles basales de corticosterona relativamente altos, al igual que glándulas suprarrenales relativamente grandes <sup>151, 156, 157</sup>.

Del mismo modo, las ratas Sprague Dawley (SD) son exogámicas, tienen una vida media 20-29 y 22-30 meses para machos y hembras respectivamente <sup>154, 155, 158</sup>, una cognición espacial elevada y presentan un comportamiento relativamente alto de ansiedad, a pesar de eso, en PCA muestran un nivel intermedio de locomoción y tigmotaxis <sup>151</sup>. En LCE pasan mucho tiempo en las secciones cerradas <sup>151, 159</sup>. Fisiológicamente, las ratas SD tienen bajas frecuencias cardíacas en reposo y niveles basales de corticosterona de intermedios a bajos.

Watson en <sup>160</sup>, fue uno de los primeros investigadores que describió los cambios en la conducta (irritabilidad, belicosa) que ocurrían en las ratas después de la OBX. Dentro de las conductas observadas en las ratas OBX se encuentran la conducta muricida similar a la observada en modelos con lesiones en el tracto olfatorio lateral y la comisura anterior, por otra parte, la alteración en las conductas de apareamiento han sido vinculadas al hipotálamo anterior preóptico medial, cuando éste sufre alguna lesión se observa un déficit en la conducta de apareamiento <sup>134</sup>.

Una de las conductas típicas la OBX es la presencia de hiperactividad locomotora en PCA, esta conducta es una respuesta al estrés originado por entornos novedosos, durante los estados de estrés el eje hipotalámico-pituitario-

adrenal (HPA) es el encargado de mediar una respuesta, la activación de estas respuestas va depender del origen del estímulo <sup>161</sup>.

Comúnmente la actividad locomotora puede ser medida a partir de PCA en la cual se mide el número de cuadros visitados (comportamiento horizontal), de acicalamientos y postura erguida de la rata (comportamiento vertical). Existe evidencia que la novedad generada por PCA en ratas intactas conduce a una mayor actividad neuronal en regiones específicas como el cuerpo estriado dorsomedial, la amígdala y la corteza cingulada <sup>162</sup>.

El incremento de la actividad locomotora/exploratoria en PCA de las ratas OBX se interpreta como una incapacidad de la rata para adaptarse al estrés por entornos novedosos <sup>130</sup>. A pesar de esto se ha visto que las conductas verticales (acicalamiento y postura erguida) pueden variar de acuerdo con la cepa utilizada. Morales y col. <sup>137</sup>, observó un incremento en ambas conductas verticales en ratas SD. Mientras, que Stepanichev y col. <sup>163</sup>, describieron un aumento en la postura erguida y una disminución en el acicalamiento en ratas Wistar. Estas variaciones pueden vincularse a las diferencias de circuitos emocionales que subyacen a la reactividad emocional.

## **JUSTIFICACIÓN**

La OBX es un modelo ideal que imita los síntomas observados en el DDM, capaz de alterar la integridad del sistema límbico de las ratas provocando una disminución en la neurogénesis en el GD del hipocampo y un aumento en la sensibilidad al estrés que se manifiesta en cambios de conducta en entornos novedosos. Sin embargo, se han observado diferencias entre distintas cepas y en la actualidad se desconoce la actividad neuronal en las estructuras que participan en el procesamiento de la novedad en ratas OBX y su correlación con la hiperlocomoción. Por lo que es importante analizar y comparar alteraciones y el daño en regiones neurogénicas similares en el DDM en distintas cepas.

## **HIPÓTESIS**

La respuesta a estímulos novedosos es distinta entre dos diferentes cepas. Las ratas con OBX manifiestan diferentes conductas exploratorias en presencia de entornos novedosos.

El modelo de extracción de BO produce cambios conductuales, neuroquímicos e inmunológicos. Estos cambios inducen alteraciones en la actividad neuronal (c-Fos) en distintas áreas corticales de la rata en presencia de entornos novedosos.

La pérdida de conexiones neuronales en las ratas OBX provoca alteraciones en la plasticidad hipocampal, disminuyendo la tasa de neurogénesis en el GD del hipocampo dorsal.

## **OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECIFICOS**

### **4. Objetivo general**

Evaluar la actividad neuronal en regiones corticales y subcorticales en ratas con OBX después de exponerlas a entornos novedosos, comparando el efecto de la desafrentación transneuronal ocasionado por lesión en la neurogénesis en ratas Wistar y SD.

### **5. Objetivos específicos**

- I. Analizar la conducta en presencia de un entorno novedoso.
- II. Medir la actividad neuronal en el procesamiento de estímulos de novedad en CPF, RT, BLA e hipocampo.
- III. Comparar el efecto de la OBX sobre la proliferación neuronal en la ZSG del hipocampo.

## **CAPITULO II: DESARROLLO EXPERIMENTAL**

### **6. Materiales y métodos**

#### **6.1. Animales**

Los experimentos se realizaron en ratas macho Wistar y SD con un peso de 250-300 g, los animales de cada cepa fueron divididos en dos grupos, el grupo con OBX y un grupo control con cirugía falsa (Sham), se mantuvieron 4 animales por caja y en condiciones normales de luz/oscuridad de 12 horas con acceso a alimentos y agua *ad libitum*. Todos los animales utilizados en este estudio se tuvieron bajo los lineamientos de la NOM-062-ZOO-1999 <sup>164</sup>. Los experimentos fueron realizados durante la fase de luz y las ratas se habituaron en el laboratorio durante una hora previa al experimento, esto con la finalidad de eliminar el ruido por estrés generado por entornos novedosos.

#### **6.2. Cirugía para generar la OBX**

Se perforaron agujeros paralelos (2 mm de diámetro) a una distancia de 8 mm por delante del bregma y 2 mm a cada lado de la línea media en un punto correspondiente al margen posterior de la órbita del ojo. Los bulbos olfatorios se retiraron por succión, los agujeros se llenaron con una esponja hemostática para controlar el sangrado excesivo y se suturó el cuero cabelludo. Las ratas operadas simuladamente se sometieron al mismo procedimiento, incluida la perforación de la duramadre, dejando los BO intactos.

Para la anestesia se utilizó un coctel de xilacina (0.75 mL) y Ketamina (0.25 mL) diluidos en 5 mL de solución salina. Con una dosis de 0.125 mL por cada 20 g de peso de la rata.

Después de la cirugía, se administraron 2 mL de solución salina vía subcutánea a cada una de las ratas para compensar la pérdida de sangre durante la cirugía, las ratas fueron colocadas en jaulas con iluminación incandescente roja hasta el momento en que despertaron de la anestesia con la finalidad de ayudar a controlar su temperatura corporal y se dejaron en parejas en sus respectivas jaulas para recuperarse durante tres semanas.



El BO se retiró completamente sin dañar el CPF (como se determinó por un examen después de la extracción del cerebro). Sólo se incluyeron en el análisis de datos los animales que no presentaron ningún daño a la CPF (n = 9 OBX y n = 10 Sham).

### **6.3. Prueba de campo abierto (PCA)**

Esta prueba se realizó entre las 9-11 horas de la mañana en una caja de campo abierto (90-90-70 cm) de madera con paredes y fondo de color negro, sin tapa superior y con iluminación brillante de 60-65 lux, el campo está dividido en 81 cuadrantes de igual tamaño (10-10 cm). El comportamiento de los animales se registró durante un período de 5 minutos, incluyendo la locomoción (comportamiento horizontal), el número de eventos de postura erguida y de acicalamientos (comportamientos verticales). Después de cada prueba la caja fue limpiada con una solución de metanol al 70% para eliminar todo rastro de olor de cada animal y evitar interferencias entre pruebas. Posterior a la prueba cada rata fue colocada en cajas individuales durante 120 minutos hasta el momento de la perfusión.

### **6.4. Protocolo de inmunohistoquímica para c-Fos**

Para la determinación de c-Fos se realizó una inmunohistoquímica, adaptando el protocolo estándar de avidina-biotina descrito por <sup>165</sup> modificando el uso de una solución de citrato de sodio.

En este estudio se analizaron cortes coronales de 40 µm de grosor obtenidos mediante un vibratomo, cada sección se colocó en series de 4 por cerebro. Las secciones se lavaron durante 5 minutos (x4) en Buffer de fosfatos (PBS) 1X, se incubaron con citrato de sodio al 0.001 M durante 48 horas a una temperatura de 4 °C. Una vez transcurridas las 48 horas los tejidos se calentaron en el vaporizador durante 15 minutos a una temperatura aproximada de 97 °C, se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 20 minutos con la caja destapada, y luego se lavaron tres veces nuevamente durante 5 minutos con agua destilada y una vez más con PBS 1X frío. Los tejidos se incubaron con en peróxido de hidrogeno al 1.5% durante 5 minutos, y posteriormente se enjuagaron dos veces durante 5 minutos con PBS

1X. Luego los tejidos se incubaron con antisuero diluyente (PBS + 3% suero normal de conejo + 0.3% de Tritón X-100) durante 2 horas y se transfirieron a la solución con anticuerpo primario (Anti c-Fos de cabra policlonal ab156802 de Abcam [1:500]) en antisuero diluyente (PBS + 1% de suero normal de conejo + 0,3% de Tritón X-100) y se incubó durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, las secciones se lavaron en 1X PBS durante 5 min (x3). Las secciones se procesaron usando un kit Goat Vectastain ABC de Vector Laboratories (PK-4001, Burlingame, CA, EE. UU.) De acuerdo con las instrucciones del kit (para el anticuerpo secundario y la reacción del complejo ABC). Posteriormente, las secciones se incubaron con DAB durante 2 minutos y 15 segundos (kit de sustrato DAB, SK-4100, Vector Laboratories, Burlingame, CA, EE. UU.)

Finalmente, las secciones se lavaron en PBS 1X durante 5 minutos (2 veces), se montaron en portaobjetos, se secaron al aire y se cubrieron con un cubreobjetos. Las células inmunopositivas se contaron con un aumento de 20 x por el mismo observador. Se usó el software iVision (BioVision Technologies, Exton, PA) para capturar las imágenes y las células inmunopositivas a c-Fos se contaron manualmente dentro de cada área neuroanatómica. Al menos cinco secciones por área se contaron bilateralmente y se promediaron. Las regiones consideradas para el estudio fueron CA1, CA2, GD del hipocampo dorsal, CPF, RT y BLA.

#### **6.5. Protocolo de inmunohistoquímica para Ki-67**

Para la determinación de Ki67 se realizó una inmunohistoquímica, adaptando el protocolo estándar de avidina-biotina descrito por Morales Medina y col., (2013) modificando los tiempos de incubación de la solución de citrato de sodio.

En este estudio se utilizaron cortes coronales de 40 µm de grosor obtenidos mediante un vibratomo, cada sección se colocó en series de 4 por cerebro. Las secciones se lavaron durante 5 minutos (x4) en PBS 1X, se incubaron con citrato de sodio al 0.001 M durante 48 horas a una temperatura de 4 °C. Una vez transcurridas las 48 horas los tejidos se calentaron en el vaporizador durante 15 minutos a una temperatura aproximada de 97 °C, se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 20 minutos con la caja destapada, y luego se lavó tres veces nuevamente durante 5 minutos con agua destilada y una vez más con PBS 1X frío.

Los tejidos se incubaron con en peróxido de hidrogeno al 3% durante 10 minutos, y posteriormente se enjuagaron dos veces durante 5 minutos con PBS 1X. Luego los tejidos se incubaron con antisuero diluyente (PBS + 2% suero normal de caballo + 0.3% de Tritón X-100) durante 30 minutos y se transfirieron a la solución de anticuerpo primario (Anti Ki67 de ratón monoclonal de BD Pharmingen [1:1000]) en antisuero diluyente (PBS + 2% de suero normal de caballo + 0,3% de Tritón X-100) y se incubaron durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, las secciones se lavaron en 1X PBS durante 5 min (x3).

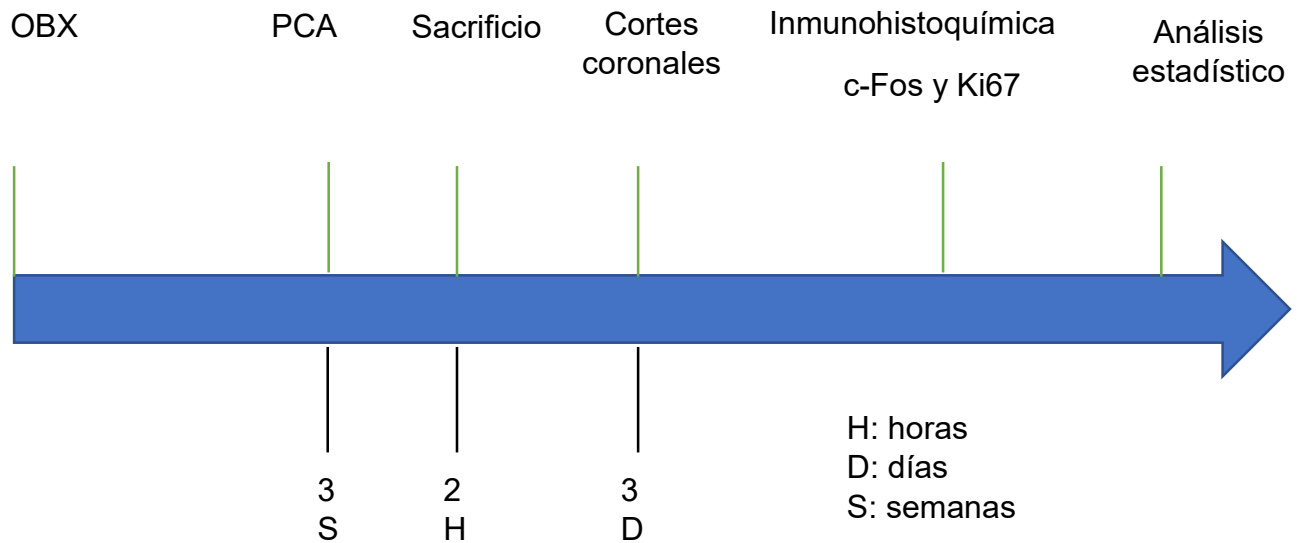
Las secciones se procesaron usando un kit Vectastain ABC de Vector Laboratories (PK-4001, Burlingame, CA, EE. UU.) De acuerdo con las instrucciones del kit (para el anticuerpo secundario anti-ratón y la reacción del complejo ABC). Posteriormente, las secciones se incubaron con DAB durante 2 minutos con 15 segundos (kit de sustrato DAB, SK-4100, Vector Laboratories, Burlingame, CA, EE. UU.). Finalmente, las secciones se lavaron en 1X PBS durante 5 minutos (2 veces), se montaron en portaobjetos, se secaron al aire y se cubrieron con un cubreobjetos. Las células inmunopositivas se contaron con un aumento de 20X por el mismo observador, ciego a los grupos de prueba. Se usó el software iVision (BioVision Technologies, Exton, PA) para capturar las imágenes y las células inmunopositivas Ki67 se contaron manualmente dentro de cada área neuroanatómica. Al menos cinco secciones por área se contaron bilateralmente y se promediaron. Las regiones que se consideró para el estudio fue el GD del hipocampo dorsal.

## 6.6. Diseño y tipo de muestreo

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad escala
Peso	Cuantitativa	Numérica	Gramos
Cepa	Cualitativa	Nominal	Wistar/SD
Condición	Cualitativa	Nominal	OBX/Sham
Conducta horizontal en PCA	Cuantitativa	Numérica	Número de eventos
Conducta vertical en PCA			
Células c-Fos+	Cuantitativa	Numérica	Número de células positivas
Células Ki67+			

**Tabla 2.** Tipos de variables experimentales.

## 7. Diseño experimental



**Figura 9.** Diagrama general de trabajo.

## 8. Estadística

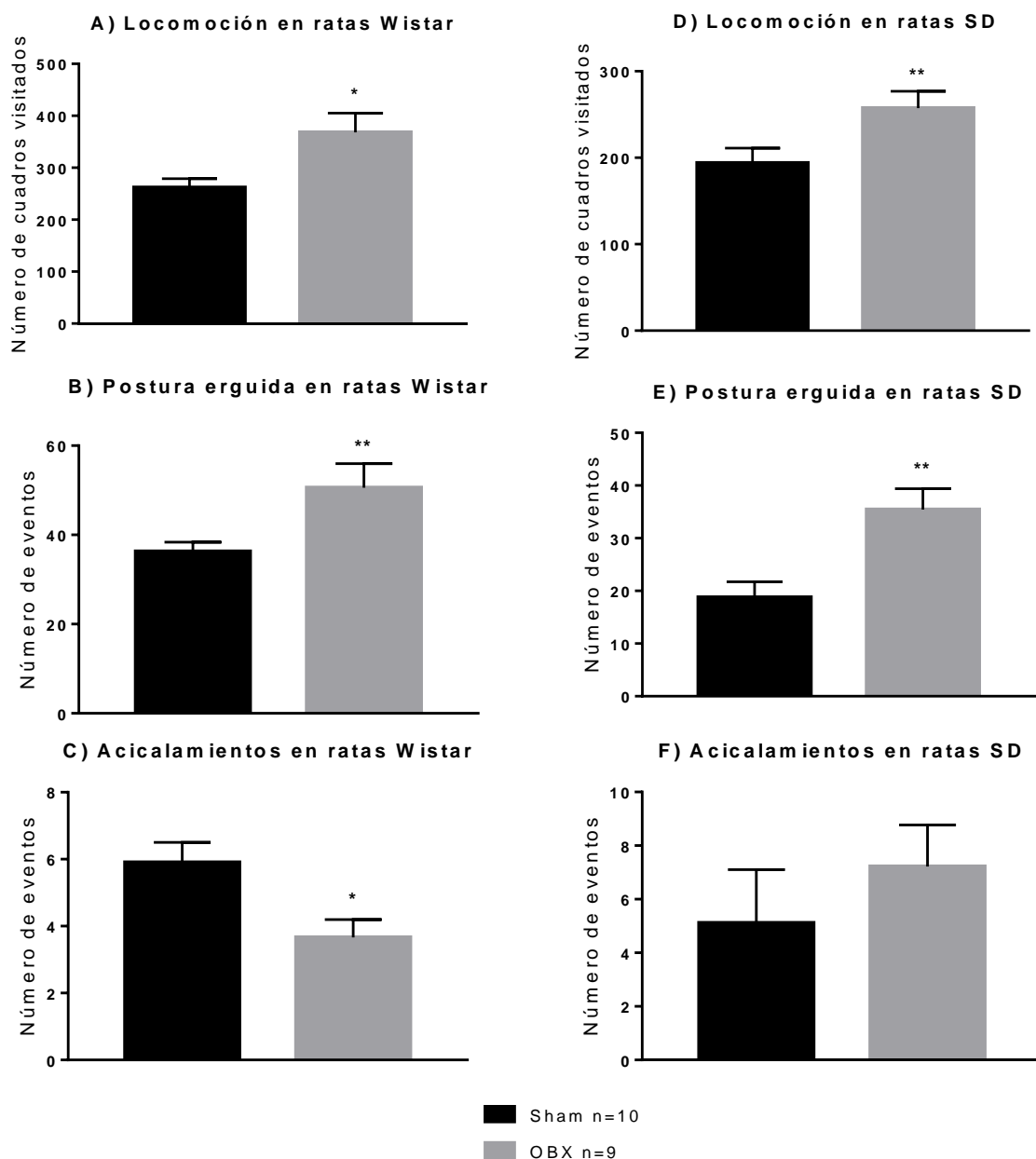
La conducta se analizó mediante una comparación entre los dos grupos a partir de una *t* de Student de dos colas no pareada, la cuantificación de c-Fos y ki67 se analizó a través de una prueba *U* de Mann-Whitney.

## 9. Resultados

Los resultados de conducta corresponden a las cepas Wistar y SD. Ambas pruebas fueron tratadas bajo las mismas condiciones.

### 9.1. Cambios de conducta en ratas sometidas a entornos novedosos

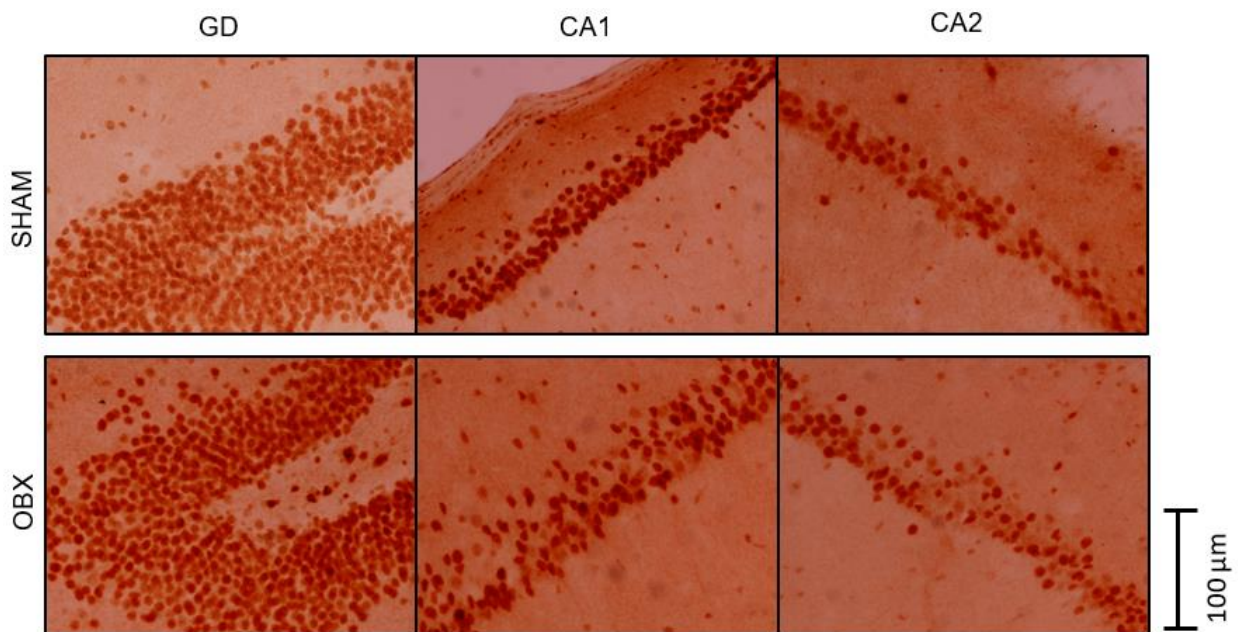
La hiperlocomoción es la característica de conducta más típica de las ratas con OBX, que simula a los pacientes con depresión agitada. Las ratas en este experimento fueron sometidas a una única PCA y su conducta fue analizada durante 5 minutos. Para ambas cepas (SD y Wistar) se encontraron alteraciones en la conducta durante la PCA al ser comparados con el grupo Sham, el análisis de los datos reveló que la eliminación de los BO en las ratas Wistar y SD provocó un aumento significativo de la actividad motora/exploratoria cuyos valores de *P* fueron  $P=0.0459$  y  $P=0.0045$  respectivamente, los valores correspondientes a la postura erguida mostraron un incremento en las ratas OBX para ambas cepas Wistar ( $P=0.0062$ ) y SD ( $P=0.004$ ) en comparación con sus grupos controles. Por último, al evaluarse el número de acicalamientos de ambos grupos, se encontró que las ratas Wistar con OBX presentaron una disminución en número de acicalamientos en comparación a sus controles ( $P=0.0139$ ). Mientras que las ratas SD no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $P=0.1848$ ) (Fig. 10).



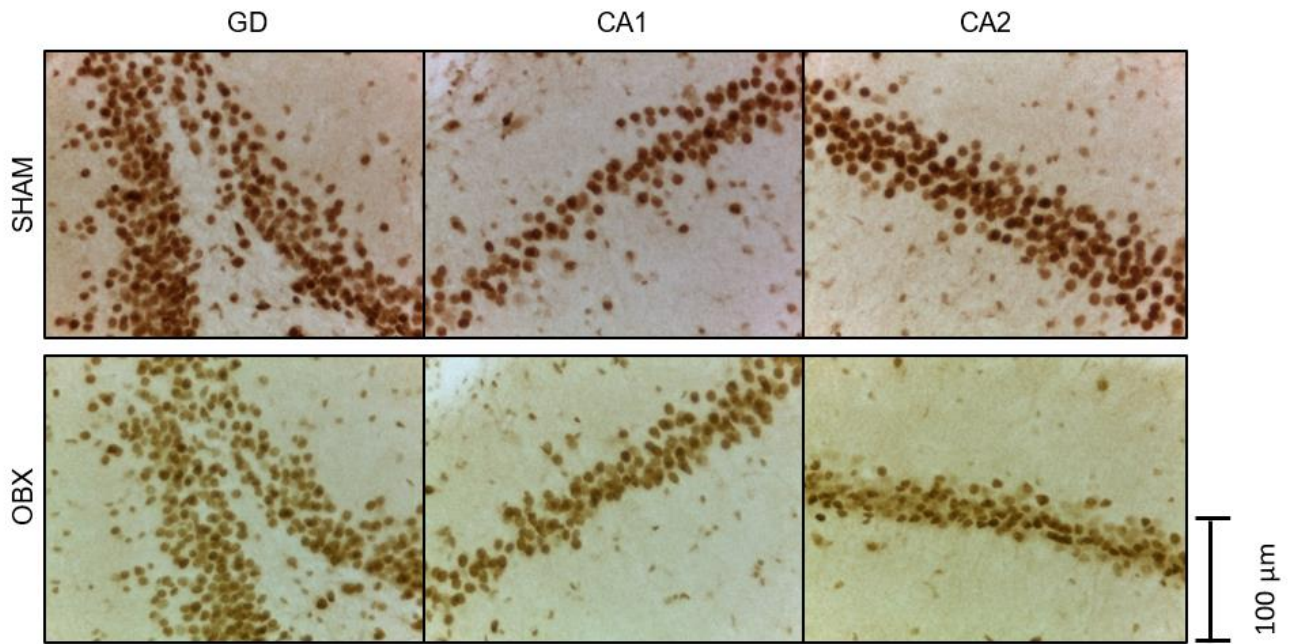
**Figura 10.** La bulbectomía olfatoria bilateral (OBX) altera la conducta en la prueba de campo abierto (PCA). La OBX incrementa el número de cuadros visitados en la PCA en las cepas Wistar y Sprague Dawley (SD) (A y D) y el número de eventos de postura erguida (B y E) pero disminuye el número de acicalamientos en la cepa Wistar (C) y permanece sin cambios en la cepa SD (F). Los datos de conducta fueron analizados mediante una t de Student de dos colas no pareada. Los resultados son expresados como la media  $\pm$  S.E.M con OBX n=9 y Sham n=10 animales por grupo, \* p<0.05 y \*\* p<0.005.

## 9.2. La OBX modificó la expresión de c-Fos en el GD del hipocampo dorsal en ratas Wistar, pero no en ratas de la cepa SD

Después de la PCA se evaluó la actividad neuronal en las subregiones del hipocampo dorsal en las cepas Wistar (Imagen 1) y SD (Imagen 2) a través de una cuantificamos de las células c-Fos positivas. Los datos fueron analizados mediante una prueba de U de Mann-Whitney y se encontró aumento de la actividad neuronal en el GD de la rata OBX de la cepa Wistar (Fig. 11C,  $p=0.0459$ ), sin embargo, no se encontraron diferencias en la expresión de c-Fos en las demás subregiones CA1, CA2 del hipocampo dorsal de las ratas Wistar, por otra parte, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las subregiones del hipocampo dorsal de las ratas de la cepa SD al compararlas con su grupo control después de PCA (Fig. 11D-F  $p>0.05$ ).

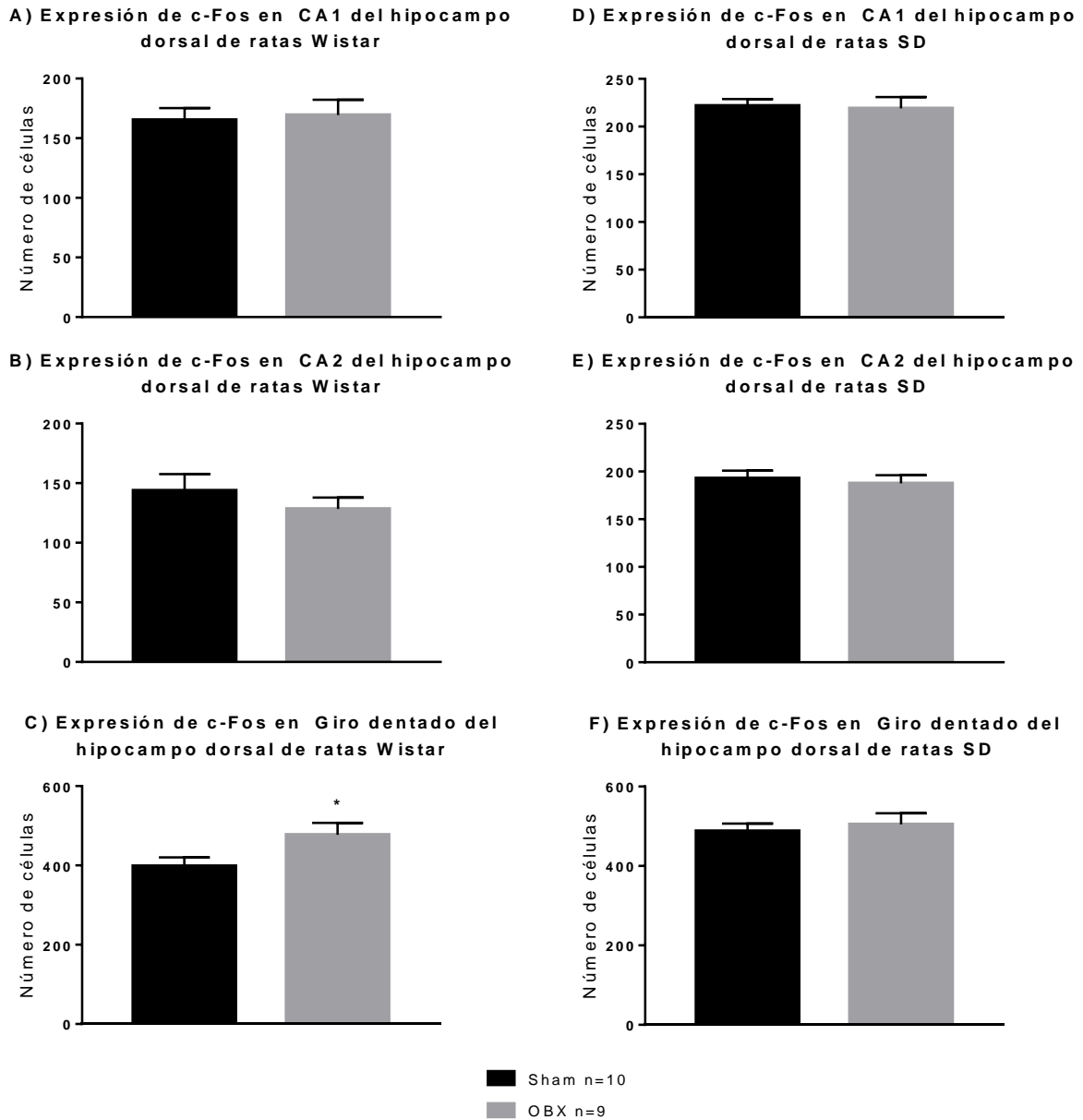


**Imagen 1.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de las subregiones del giro dentado (GD), CA1 y CA2 del hipocampo dorsal de la cepa Wistar (20x).



**Imagen 2.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de las subregiones del giro dentado (GD), CA1 y CA2 del hipocampo dorsal de la cepa SD (20x).

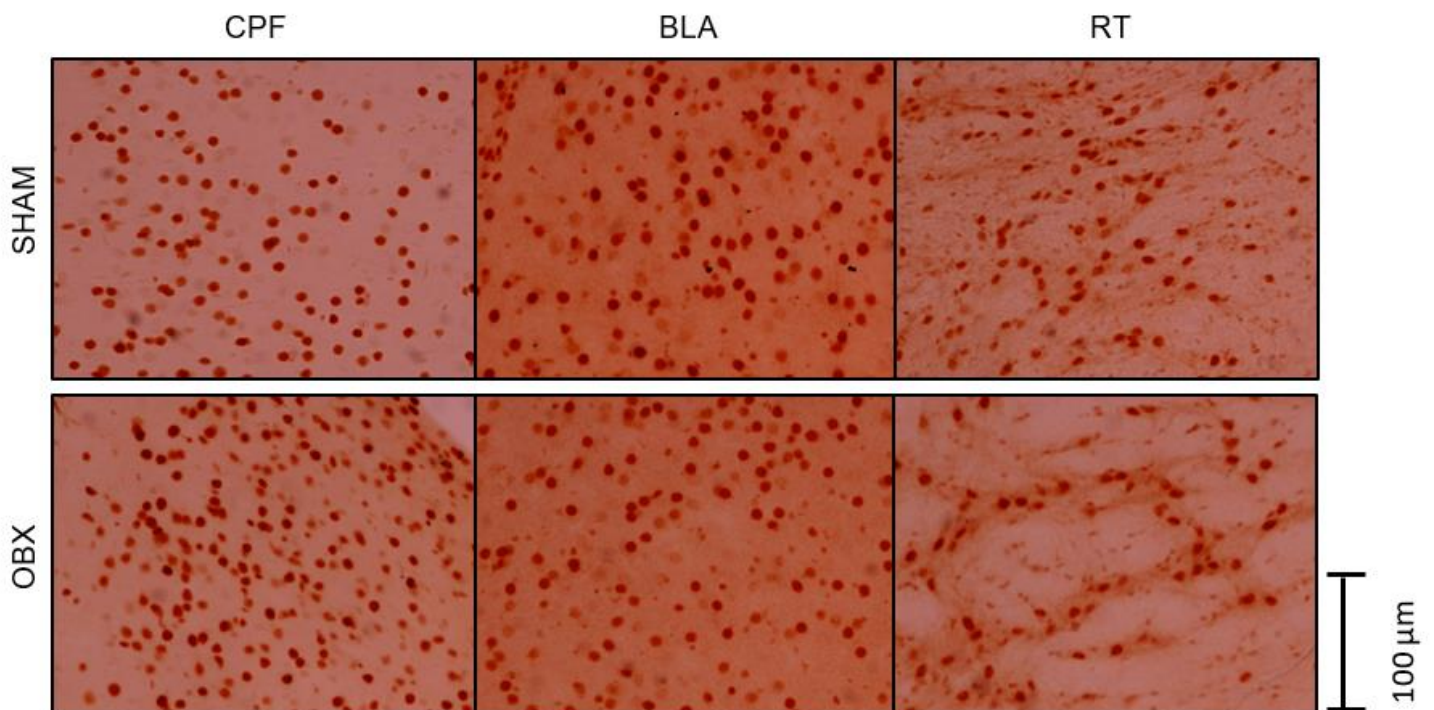




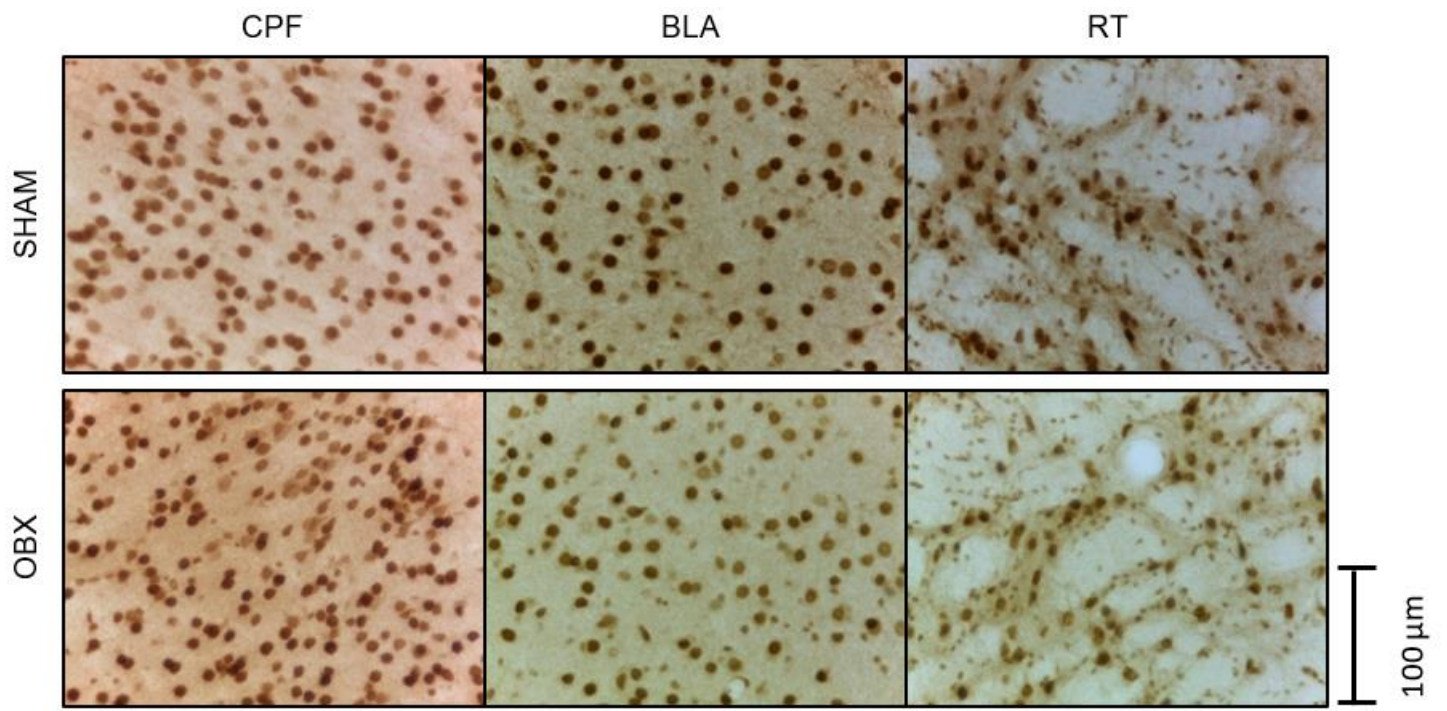
**Figura 11.** Actividad neuronal de las subregiones del hipocampo dorsal de las ratas con OBX de las cepas Wistar y SD. La OBX incrementa la expresión de c-Fos en el giro dentado (GD) de las ratas Wistar en comparación con las ratas Sham (C). Sin embargo, la expresión de c-Fos en las demás subregiones del hipocampo dorsal de la cepa Wistar y todas las subregiones del hipocampo dorsal en la cepa SD no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Los resultados son expresados como la media  $\pm$  S.E.M con OBX n=9 y Sham n=10 animales por grupo, \*  $p < 0.05$ .

### 9.3. La OBX modificó la expresión de c-Fos en CPF en la cepa Wistar, pero no en la cepa SD y no mostró diferencias en BLA y RT

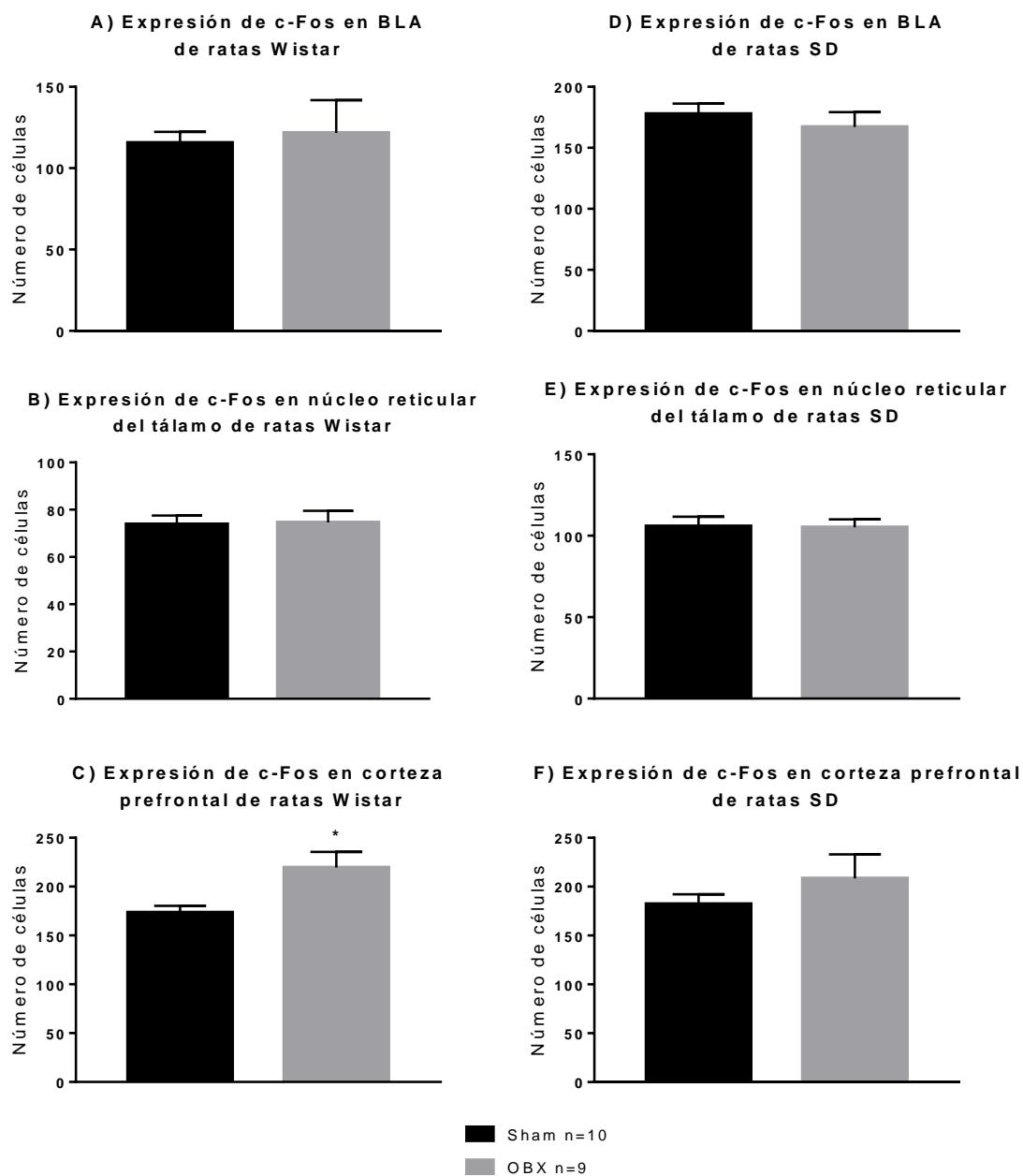
La cuantificación de las células c-Fos positivas en regiones del sistema límbico como la CPF, BLA y el RT de la cepa Wistar (Imagen 3) y de la cepa SD (Imagen 4) fueron analizadas mediante una prueba de U de Mann-Whitney y se encontró un aumento de la actividad neuronal en la CPF de la rata con OBX en la cepa Wistar (Fig. 12C  $p < 0.05$ ), sin embargo, no se encontraron diferencias en la expresión de c-Fos en BLA, RT en la cepa Wistar en comparación con las ratas Sham después de la PCA (Fig. 12A-B). Por otra parte, las ratas de la cepa SD no mostraron diferencias estadísticamente significativas al compararlas con su respectivo grupo control (Fig. 12D-F).



**Imagen 3.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de corteza prefrontal (CPF), amígdala basolateral (BLA) y núcleo reticular (RT) de la cepa Wistar (20x).



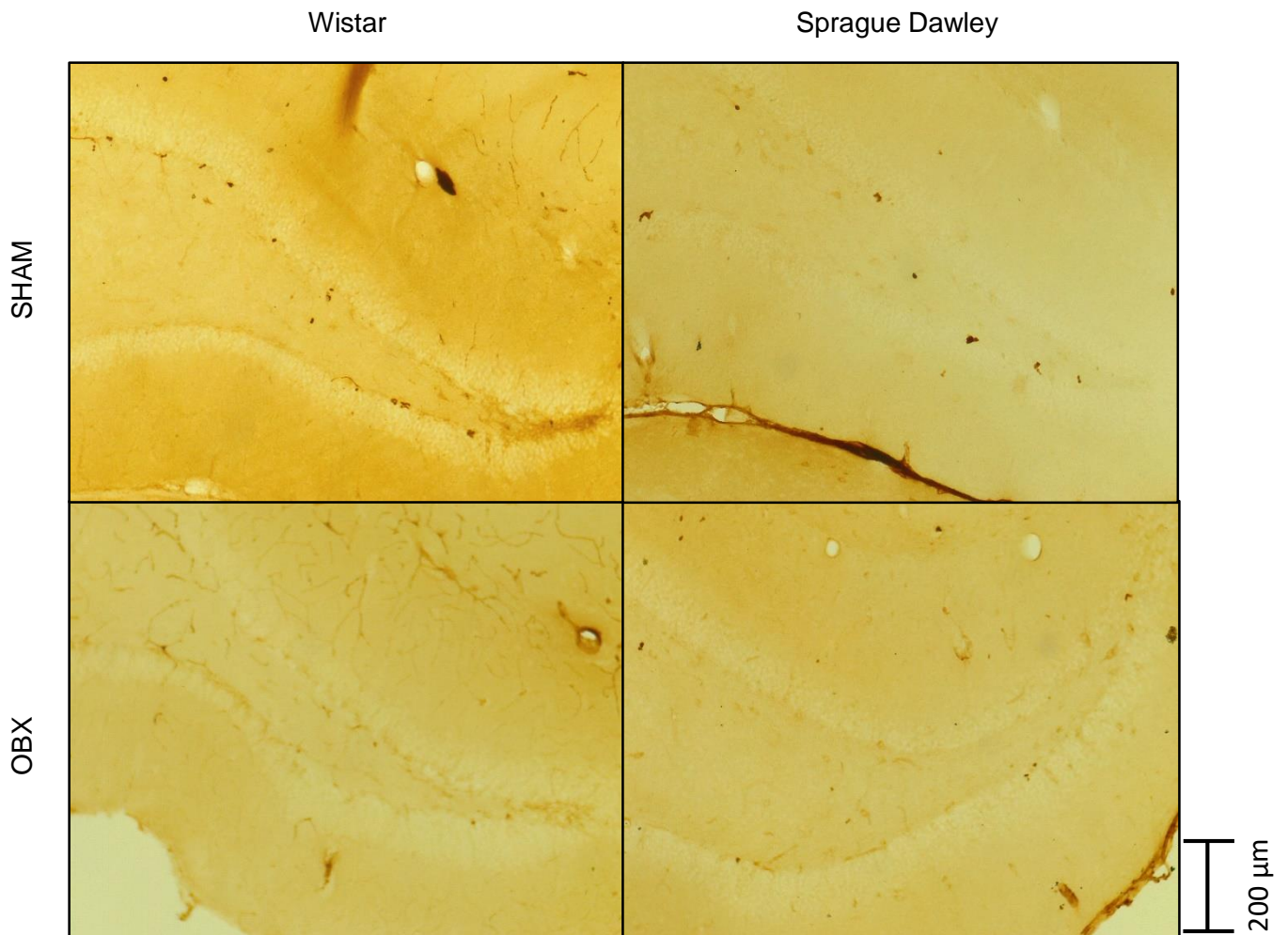
**Imagen 4.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de c-Fos de corteza prefrontal (CPF), amígdala basolateral (BLA) y núcleo reticular (RT) de la cepa SD (20x).



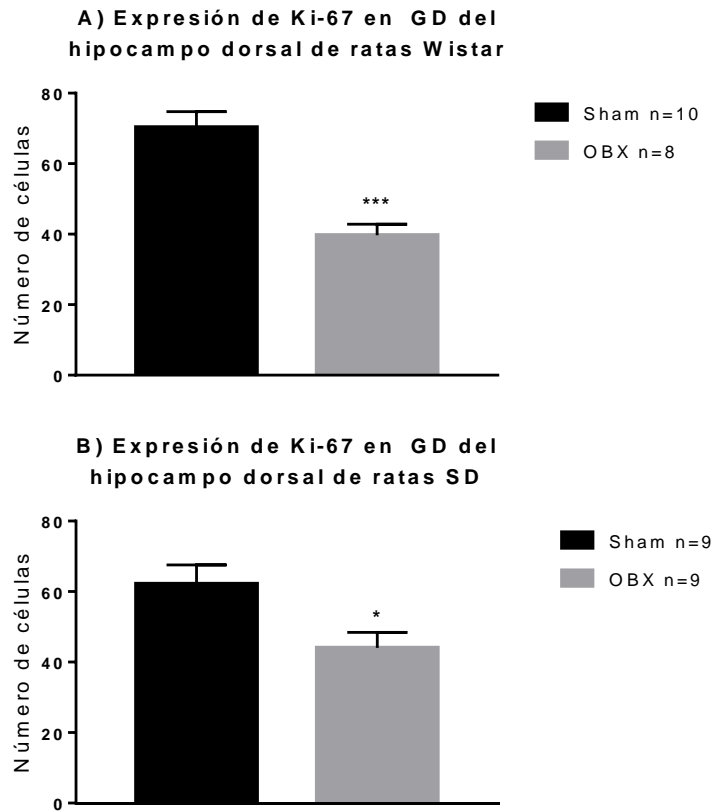
**Figura 12.** Actividad neuronal de las regiones del sistema límbico de las ratas con OBX de las cepas Wistar y SD. La OBX incrementa la expresión de c-Fos en la corteza prefrontal (CPF) sólo en las ratas Wistar en comparación con las ratas Sham (C) y no mostró cambios en las ratas SD (F). Sin embargo, la expresión de c-Fos en BLA y RT en ambas cepas no mostró diferencias estadísticamente significativas (Wistar: A-B y SD: D-E). Los resultados son expresados como la media  $\pm$  S.E.M con OBX n=9 y Sham n=10 animales por grupo, \*  $p < 0.05$ .

#### 9.4. La OBX disminuye la proliferación celular en el GD del hipocampo dorsal en ambas cepas

La OBX disminuyó significativamente el número de las células ki67 positivas en el GD del hipocampo dorsal en ambas cepas ( $p < 0.05$ ) a los 21 días después de la extracción del BO o la cirugía Sham (Imagen. 5), lo que indica una reducción en la neurogénesis. El análisis de c-Fos, los datos de Ki67 fueron analizados mediante una prueba de U de Mann-Whitney y se encontró una disminución en la tasa de neurogénesis del GD en ambas cepas ( $p < 0.05$ ) Wistar (Fig. 13A-C) y SD (Fig. 13D-F).



**Imagen 5.** Microfotografía de la inmunohistoquímica de Ki67 del GD del hipocampo dorsal de las cepas Wistar y SD (10x).



**Figura 13.** Cuantificación de la proliferación celular en las neuronas del GD de ratas con OBX adultas en las cepas Wistar y SD. Las ratas con OBX presentaron una disminución en la cuantificación de las células Ki67 positivas en la zona subgranular del GD. Los resultados son expresados como la media  $\pm$  S.E.M con OBX n=8 y Sham n=10 (Wistar) y OBX n=9 y Sham n=9 (SD) animales por grupo, \*  $p < 0.05$  y \*\*\*  $p < 0.0005$ .

## **Discusión**

En la presente tesis se analizó el efecto de la OBX sobre la actividad neuronal que regula la capacidad de adaptarse a entornos novedosos, de igual manera, se buscó evaluar los procesos de neurogénesis alterados que presenta el modelo. En la presente discusión de resultados, se presenta los antecedentes e hipótesis relacionados con los resultados obtenidos sobre la alteración de la actividad neuronal en entornos novedosos y la neurogénesis en el GD del hipocampo dorsal.

### **9.5. La OBX induce una hiper-respuesta a entornos novedosos**

La depresión agitada está caracterizada por presentar irritabilidad, agitación psicomotora y un alto riesgo al suicidio, pérdida de apetito y culpa exacerbada <sup>166</sup>. Las características de la conducta de las ratas con OBX como la hiperactividad a entornos novedosos y los déficits de memoria, lo convierten en el modelo ideal para el estudio del DDM.

La OBX induce un proceso de reorganización en áreas límbicas y corticales que parece ser responsable de las anomalías en la conducta, aumentando la susceptibilidad y la capacidad de respuesta al estrés inducido por la novedad <sup>130, 145, 150</sup>. El hipocampo es una de las regiones cerebrales esenciales para diversos procesos de comportamiento y fisiología, como la navegación espacial, la regulación del eje HPA, la memoria declarativa y el control emocional <sup>167</sup>. El BO puede enviar conexiones de manera directa e indirecta a través de la CPir y la CEnt hacia el hipocampo, por lo tanto la ablación de los BO va más allá de una anosmia, conduciendo a alteraciones funcionales y estructurales del hipocampo. Debido al papel que juega el hipocampo en la detección de la novedad, el daño ocasionado por la lesión es fundamental en las conductas exploratorias alteradas en este modelo.

En el presente estudio, la OBX en ratas macho de la cepa Wistar y SD mediante la aspiración de los BO y 21 días después mostró un incremento sustancial en la conducta locomotora/exploratoria cuando fueron colocadas en la arena de campo abierto, lo que podría confirmar un daño directo en el hipocampo.

La PCA es una prueba clásica utilizada para la evaluación de la actividad locomotora y exploratoria. Al evaluar las conductas verticales de las ratas con OBX encontramos que ambas cepas mostraron un aumento de la postura erguida. Todas las acciones conductuales tienen como objeto mapear el entorno y, como tales, son indispensables para la habituación de los animales. La función principal de la "postura erguida" es hacer que las fuentes alternativas de información sensorial multimodal (es decir, el contexto) sean accesibles para el animal, permitiendo el reconocimiento de la novedad, la discriminación de diferentes entornos y, en última instancia el refinamiento del mapa espacial en formación, Barth y col., <sup>168</sup> descubrieron que el GD es el lugar principal del cambio de patrones de entrada acoplados a la postura erguida, lo que sugiere que la información contextual, muestreada durante los eventos de postura erguida se transmiten principalmente a través de la vía perforante medial a la formación del hipocampo través del GD. El incremento de esta conducta en ambas cepas sugiere que los animales poseen un alto grado de ansiedad por el entorno novedoso, por otra parte, esta hiperactividad se puede relacionar directamente al daño ocasionado en el hipocampo de las ratas con OBX.

Respecto al número de acicalamientos entre ambas cepas. El acicalamiento es una conducta innata que está involucrado en el mantenimiento de la higiene y otros procesos fisiológicos importantes, como la termorregulación, la comunicación social y la excitación <sup>169, 170</sup>. Esta conducta implica una serie de movimientos individuales que forman secuencias funcionales, incluyendo patrones altamente estereotipados, además, puede ser utilizada para imitar los fenotipos en un amplio rango de condiciones humanas <sup>170</sup>. Asimismo el acicalamiento está ligado a una amplia red neuronal, en la que se encuentra el cerebelo, la neocorteza, el estriado, el tronco encefálico, el hipotálamo y la amígdala <sup>170</sup>. No obstante, la evidencia encontrada por diversos autores ha mostrado que lesiones dentro de esta red neuronal alteran la ejecución del acicalamiento, por ejemplo, lesiones del cuerpo estriado provocan un déficit permanente en la capacidad de completar cadenas secuenciales de acicalamiento sintácticas <sup>171</sup>. Por otro lado, las lesiones en la neocorteza o en el cerebelo producen déficits de tiempo y anomalías en los



movimientos individuales de acicalamiento sin afectar el patrón secuencial de las cadenas de aseo <sup>172</sup>. Por lo tanto, podemos inferir que la disminución de acicalamientos en las ratas Wistar se encuentra correlacionado al daño neuronal de la OBX en el circuito límbico, del mismo modo, a pesar de que Morales y col. <sup>137</sup> reportaron que en ratas SD el número de acicalamientos aumenta, los resultados en este estudio permanecieron sin cambios, esto podría ser a causa de las diferentes condiciones (luz, temperatura, ruido y humedad) empleadas durante la PCA.

La hiperactividad observada en las ratas con OBX como respuesta al estrés, se interpreta como una incapacidad de la rata para adaptarse a entornos novedosos. Al evaluar las dos cepas se pudieron observar diferencias en los valores que presentan cada una en la PCA, esto podría ser debido a las características que tiene cada cepa, aunque ambas cepas presentan una conducta similar a la ansiedad, Wistar destaca por presentar altos niveles de unión al receptor de dopamina D1 y D2 en los ganglios basales y el caudado putamen respectivamente en comparación con las ratas SD, lo que puede ser la base de las diferencias en la locomoción entre ambas cepas <sup>173</sup>.

Estos resultados confirman los hallazgos encontrados en la literatura, mostrando alteraciones conductuales típicas del modelo de OBX, con lo que se puede afirmar que el fenotipo obtenido corresponde al de los modelos de depresión previamente descritos.

#### **9.6. La OBX modificó la expresión de c-Fos en GD del hipocampo dorsal en ratas Wistar**

La detección temprana de la novedad constituye una ventaja evolutiva que garantiza una evaluación rápida y precisa de la información novedosa, su potencial relevancia y la posible amenaza que puede presentar. La rapidez de la discriminación entre estímulos novedosos (estímulos visuales) y conocidos nos sugiere que el procesamiento de la información novedosa puede estar sujeta a un sistema de evaluación de novedad rápido y altamente especializado, estudios de resonancia magnética han identificado que estos estímulos se procesan en áreas occipitales

medias, la circunvalación fusiforme, que conduce a las cortezas parahipocampal, perirrinal y finalmente al hipocampo <sup>12</sup>.

Como se mencionó previamente, la OBX presenta una serie de cambios fisiológicos, neurológicos y endocrinos, cabe recordar que una de las principales estructuras afectadas por la OBX es el hipocampo. Se ha demostrado que las lesiones en las estructuras y vías del hipocampo reducen la capacidad para detectar o responder a la novedad <sup>6</sup>. El GD es el principal punto de entrada de la red clásica del hipocampo trisináptica, que comprende un conjunto laminar de conexiones unidireccionales que conectan la CEnt al GD, el GD a CA3, el CA3 al CA1 y el CA1 a la CEnt. Sin embargo, cabe recordar que la red trisináptica no es completamente lineal y que la vía perforante también incide directamente en las células piramidales de CA3, evitando así el GD. Las entradas del GD traen información sensorial de la corteza que finalmente conducirá a la producción de recuerdos episódicos <sup>86</sup>. Por lo regular, un incremento agudo de la conducta locomotora/exploratoria es directamente proporcional a la habituación que pueden presentar los roedores, la cual suele disminuir una vez que el roedor se adapta al entorno novedoso, lo observado en este experimento confirma lo propuesto por diversos autores, concluyendo que las ratas con OBX no son capaces de adaptarse a entornos novedosos y la hiperactividad es un intento fallido por adaptarse al entorno novedoso.

En este estudio se propone que el incremento de c-Fos en el GD de la rata Wistar es causado por una disrupción en la red del hipocampo trisináptica y de la vía perforante, a causa del daño recibido por la bulbectomía, posiblemente como un efecto compensatorio del GD para mandar la información proveniente de la CEnt a la región CA3 del hipocampo. El no encontrar este efecto en las ratas de la cepa SD sugiere que la entrada de información del entorno novedoso a través de la vía perforante se mantiene intacta aun después de la bulbectomía.

### **9.7. La expresión de c-Fos en CPF aumenta en ratas con OBX**

La depresión está asociada a varias regiones del cerebro, como la CPF, el cuerpo estriado y el hipocampo, y las lesiones en estas regiones inducen conductas

depresivas en los roedores. Actualmente se sabe que en las ratas sometidas a un ambiente estresante aumenta la expresión de c-Fos en áreas corticales (prefrontal medial, cíngulo, orbital, parietal), bulbo olfatorio, tabique lateral, amígdala, hipocampo, tálamo, caudado e hipotálamo <sup>162, 174-177</sup>.

La CPF juega un papel en la memoria, la atención, la emoción, el control autónomo e inicio de respuesta <sup>178, 179</sup>. En ratas se ha observado que una lesión en CPF genera conductas similares a la ansiedad <sup>180</sup>. Además, se sabe que la DA prefrontal participa en la modulación de la ansiedad, aumentando durante situaciones estresantes <sup>181</sup>. Por otra parte, se ha demostrado que en la OBX disminuyen los niveles extracelulares de dopamina, 5-HT y noradrenalina en la CPF <sup>182-184</sup>. La disminución de estas monoaminas está relacionada con las conductas típicas (anhedonia, hiperlocomoción, déficit de evitación pasiva, reducción de actividad sexual, incremento de la conducta exploratoria) de las ratas con OBX, y pueden ser resultado de la pérdida de aferencias entre los BO-hipocampo-CPF resultando en una falla para poder adaptarse a entornos novedoso, cabe destacar que durante la OBX ocurre un proceso de necrosis neuronal en las regiones que tienen íntimo contacto con los BO, afectando primeramente a la CPir y el circuito que va hasta el hipocampo <sup>137, 141</sup>. Estudios recientes han reportado que la administración de fármacos antidepresivos de acción rápida puede aumentar las concentraciones de dopamina y 5-HT en hipocampo y CPF, y paralelamente la expresión de c-Fos en estas regiones <sup>185</sup>.

En este estudio se propone que el incremento de c-Fos observado en las ratas Wistar con OBX corresponde a una activación dopaminérgica compensatoria de esa estructura, con la finalidad de alcanzar un estado de habituación en el roedor. Es posible, que debido al daño generado por la lesión no se logra llegar a alcanzar satisfactoriamente ese estado.

### **9.8. La OBX disminuye la proliferación celular en el GD del hipocampo dorsal**

Debido a la estrecha relación entre los BO y el hipocampo, es inevitable que la OBX conduzca a cambios en el hipocampo. La OBX redujo la neurogénesis en el GD,

disminuyó la potenciación a largo plazo en CA1 y GD y disminuyó la arborización dendrítica <sup>137, 186</sup>.

El rasgo conductual de la reactividad a la novedad se ha relacionado con la neurogénesis del hipocampo <sup>187</sup>. Existe evidencia donde se ha observado que la neurogénesis es menor en aquellas ratas que mostraron una mayor reactividad locomotora en presencia de entornos novedosos en comparación con las ratas que mostraron una menor reactividad locomotora, lo que sugiere que la plasticidad del hipocampo puede predecirse por el rasgo de reactividad a la novedad <sup>187</sup>. Como ya se ha mencionado, OBX genera procesos de neuroinflamación y disminución en la tasa de neurogénesis, por lo que los resultados en este estudio son consistentes con lo encontrado previamente en la literatura.

## **10. Conclusión**

Nuestros resultados muestran un aumento en la actividad motora y en la tasa de postura erguida durante la PCA en las ratas con OBX para ambas cepas, esto sugiere que las ratas se encuentran en un proceso exploratorio elevado a causa de la incapacidad de adaptarse a entornos novedosos.

Por otra parte, el número de acicalamiento fue menor en las ratas Wistar, esto podría deberse al daño producido por la OBX en las regiones neuronales (cerebelo, neocórtex, estriado, tronco encefálico, hipotálamo y amígdala) encargadas de esta conducta.

El no encontrar cambios en el número de acicalamientos en las ratas SD similares a otros estudios podría deberse a las condiciones empleadas durante la PCA, es importante tener en cuenta que factores como luz y temperatura influyen directamente en las conductas exploratorias durante la PCA.

Los valores de c-Fos revelan que el GD y la CPF de las ratas Wistar con OBX reacciona con una activación elevada a PCA, lo que indica que la neurodegeneración ocasionada por la OBX y la supresión de la neurogénesis del hipocampo modifican la actividad neuronal de las regiones cerebrales relacionadas

con la cognición y la emoción, afectando la capacidad de la rata para procesar la información del entorno novedoso llevándola a un estado de hiperlocomoción.

La diferencia entre ambas cepas podría relacionarse con la susceptibilidad a la lesión, principalmente para la cepa Wistar. Nuestros resultados nos llevan a la perspectiva de evaluar ambas cepas con una batería de pruebas más grande y extender la cuantificación de c-Fos a otras regiones importantes que están ligadas a procesos como la ansiedad, miedo y recompensa para obtener información relevante y poder elucidar las diferencias neuronales entre ambas cepas.

## 11. Referencias

1. Kandel, E. R.; Mack, S.; Jessell, T. M.; Schwartz, J. H.; Siegelbaum, S. A.; Hudspeth, A. J., *Principles of Neural Science, Fifth Edition*. McGraw-Hill Education: 2013.
2. Jaeger, B. N.; Linker, S. B.; Parylak, S. L.; Barron, J. J.; Gallina, I. S.; Saavedra, C. D.; Fitzpatrick, C.; Lim, C. K.; Schafer, S. T.; Lacar, B.; Jessberger, S.; Gage, F. H., A novel environment-evoked transcriptional signature predicts reactivity in single dentate granule neurons. *Nature communications* **2018**, *9* (1), 3084-3084.
3. Chrousos, G. P., Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology* **2009**, *5*, 374.
4. Chrousos, G. P.; Gold, P. W., The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama* **1992**, *267* (9), 1244-52.
5. Dean, J.; Keshavan, M., The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian Journal of Psychiatry* **2017**, *27*, 101-111.
6. Save, E.; Poucet, B.; Foreman, N.; Buhot, M.-C., Object exploration and reactions to spatial and nonspatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation. *Behavioral Neuroscience* **1992**, *106* (3), 447-456.
7. O'Keefe, J., *The hippocampus as a cognitive map / John O'Keefe and Lynn Nadel*. Clarendon Press ; Oxford University Press: Oxford : New York, 1978.
8. Power, T. G., *Play and exploration in children and animals*. Lawrence Erlbaum Associates Publishers: Mahwah, NJ, US, 2000; p 497.
9. Leussis, M. P.; Bolivar, V. J., Habituation in rodents: A review of behavior, neurobiology, and genetics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **2006**, *30* (7), 1045-1064.
10. Kafkas, A.; Montaldi, D., How do memory systems detect and respond to novelty? *Neuroscience letters* **2018**, *680*, 60-68.
11. Baylis, G.; Rolls, E., Responses of neurons in the inferior temporal cortex in short term and serial recognition memory tasks. *Experimental Brain Research* **1986**, *65* (3), 614-622.
12. Xiang, J. Z.; Brown, M. W., Differential neuronal encoding of novelty, familiarity and recency in regions of the anterior temporal lobe. *Neuropharmacology* **1998**, *37* (4), 657-676.
13. Kafkas, A.; Montaldi, D., Two separate, but interacting, neural systems for familiarity and novelty detection: A dual-route mechanism. *Hippocampus* **2014**, *24* (5), 516-527.
14. Scammell, T. E.; Saper, C. B., Orexins: looking forward to sleep, back at addiction. In *Nat Med*, 2007; Vol. 13, pp 126-8.
15. Dixon, M. L.; Thiruchselvam, R.; Todd, R.; Christoff, K., Emotion and the prefrontal cortex: An integrative review. *Psychol Bull* **2017**, *143* (10), 1033-1081.
16. Thierry, A.-M.; Gioanni, Y.; Dégénétais, E.; Glowinski, J., Hippocampo-prefrontal cortex pathway: Anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* **2000**, *10* (4), 411-419.
17. Groenewegen, H. J., Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* **1988**, *24* (2), 379-431.
18. Conde, F.; Maire-Lepoivre, E.; Audinat, E.; Crepel, F., Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *J Comp Neurol* **1995**, *352* (4), 567-93.
19. Pennartz, C. M.; Groenewegen, H. J.; Lopes da Silva, F. H., The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. *Prog Neurobiol* **1994**, *42* (6), 719-61.
20. Mogenson, G. J.; Jones, D. L.; Yim, C. Y., From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol* **1980**, *14* (2-3), 69-97.
21. Finlay, J. M.; Zigmond, M. J.; Abercrombie, E. D., Increased dopamine and norepinephrine release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: Effects of diazepam. *Neuroscience* **1995**, *64* (3), 619-628.
22. Balderston, N. L.; Schultz, D. H.; Helmstetter, F. J., The human amygdala plays a stimulus specific role in the detection of novelty. *NeuroImage* **2011**, *55* (4), 1889-1898.
23. Donley, M. P.; Rosen, J. B., Novelty and fear conditioning induced gene expression in high and low states of anxiety. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)* **2017**, *24* (9), 449-461.
24. Blackford, J. U.; Buckholz, J. W.; Avery, S. N.; Zald, D. H., A unique role for the human amygdala in novelty detection. *Neuroimage* **2010**, *50* (3), 1188-93.
25. Kiehl, K. A.; Stevens, M. C.; Laurens, K. R.; Pearson, G.; Calhoun, V. D.; Liddle, P. F., An adaptive reflexive processing model of neurocognitive function: supporting evidence from a large scale (n = 100) fMRI study of an auditory oddball task. *Neuroimage* **2005**, *25* (3), 899-915.
26. Rutishauser, U.; Mamelak, A. N.; Schuman, E. M., Single-trial learning of novel stimuli by individual neurons of the human hippocampus-amygdala complex. *Neuron* **2006**, *49* (6), 805-13.
27. Schwartz, C. E.; Wright, C. I.; Shin, L. M.; Kagan, J.; Whalen, P. J.; McMullin, K. G.; Rauch, S. L., Differential amygdalar response to novel versus newly familiar neutral faces: a functional MRI probe developed for studying inhibited temperament. *Biol Psychiatry* **2003**, *53* (10), 854-62.
28. Wright, C. I.; Martis, B.; Schwartz, C. E.; Shin, L. M.; Fischer, H. H.; McMullin, K.; Rauch, S. L., Novelty responses and differential effects of order in the amygdala, substantia innominata, and inferior temporal cortex. *Neuroimage* **2003**, *18* (3), 660-9.

29. Barnett, S. A., Exploratory behaviour. *British Journal of Psychology* **1958**, *49* (4), 289-310.
30. Berlyne, D. E., Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour. *British Journal of Psychology. General Section* **1950**, *41* (1-2), 68-80.
31. Hughes, R. N., Neotic preferences in laboratory rodents: issues, assessment and substrates. *Neurosci Biobehav Rev* **2007**, *31* (3), 441-64.
32. Davis, M.; Whalen, P. J., The amygdala: vigilance and emotion. *Mol Psychiatry* **2001**, *6* (1), 13-34.
33. Misslin, R.; Ropartz, P., Effects of lateral amygdala lesions on the responses to novelty in mice. *Behavioural Processes* **1981**, *6* (4), 329-336.
34. Buck, L. B., Information coding in the vertebrate olfactory system. *Annu Rev Neurosci* **1996**, *19*, 517-44.
35. McGaugh, J. L.; Cahill, L.; Roozendaal, B., Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1996**, *93* (24), 13508-14.
36. Herman, J. P.; Figueiredo, H.; Mueller, N. K.; Ulrich-Lai, Y.; Ostrander, M. M.; Choi, D. C.; Cullinan, W. E., Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology* **2003**, *24* (3), 151-180.
37. Salm, A. K.; Pavelko, M.; Krouse, E. M.; Webster, W.; Kraszpuski, M.; Birkle, D. L., Lateral amygdaloid nucleus expansion in adult rats is associated with exposure to prenatal stress. *Developmental Brain Research* **2004**, *148* (2), 159-167.
38. Willis, M. A.; Haines, D. E., Chapter 31 - The Limbic System. In *Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications (Fifth Edition)*, Haines, D. E.; Mihailoff, G. A., Eds. Elsevier: 2018; pp 457-467.e1.
39. Fanselow, M. S.; Dong, H.-W., Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* **2010**, *65* (1), 7-19.
40. Remondes, M.; Schuman, E. M., Role for a cortical input to hippocampal area CA1 in the consolidation of a long-term memory. *Nature* **2004**, *431* (7009), 699-703.
41. Steward, O.; Scoville, S. A., Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *Journal of Comparative Neurology* **1976**, *169* (3), 347-370.
42. Andersen, P.; Bliss, T. V.; Skrede, K. K., Lamellar organization of hippocampal pathways. *Exp Brain Res* **1971**, *13* (2), 222-38.
43. Wright, J. W.; Murphy, E. S.; Elijah, I. E.; Holtfreter, K. L.; Davis, C. J.; Olson, M. L.; Muhunthan, K.; Harding, J. W., Influence of hippocampectomy on habituation, exploratory behavior, and spatial memory in rats. *Brain Research* **2004**, *1023* (1), 1-14.
44. Bannerman, D. M.; Yee, B. K.; Good, M. A.; Heupel, M. J.; Iversen, S. D.; Rawlins, J. N. P., Double dissociation of function within the hippocampus: A comparison of dorsal, ventral, and complete hippocampal cytotoxic lesions. *Behavioral Neuroscience* **1999**, *113* (6), 1170-1188.
45. VanElzakker, M.; Fevurly, R. D.; Breindel, T.; Spencer, R. L., Environmental novelty is associated with a selective increase in Fos expression in the output elements of the hippocampal formation and the perirhinal cortex. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)* **2008**, *15* (12), 899-908.
46. Ho, A.; Shen, J., Presenilins in synaptic function and disease. *Trends Mol Med* **2011**, *17* (11), 617-24.
47. Kovács, K., Measurement of Immediate-Early Gene Activation- c-fos and Beyond. *Journal of neuroendocrinology* **2008**, *20*, 665-72.
48. Santos, P.; da Silva, L. E. C. M.; Leão, R. M., Specific immediate early gene expression induced by high doses of salicylate in the cochlear nucleus and inferior colliculus of the rat. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology* **2017**, *83* (2), 155-161.
49. Papa, M.; Pellicano, M. P.; Welzl, H.; Sadile, A. G., Distributed changes in c-Fos and c-Jun immunoreactivity in the rat brain associated with arousal and habituation to novelty. *Brain Research Bulletin* **1993**, *32* (5), 509-515.
50. Hess, U. S.; Lynch, G.; Gall, C. M., Regional patterns of c-fos mRNA expression in rat hippocampus following exploration of a novel environment versus performance of a well-learned discrimination. *J Neurosci* **1995**, *15* (12), 7796-809.
51. Perrin-Terrin, A.-S.; Jeton, F.; Pichon, A.; Frugière, A.; Richalet, J.-P.; Bodineau, L.; Voituron, N., The c-FOS Protein Immunohistological Detection: A Useful Tool As a Marker of Central Pathways Involved in Specific Physiological Responses In Vivo and Ex Vivo. *Journal of visualized experiments : JoVE* **2016**, (110), 53613.
52. Curran, T.; Teich, N. M., Identification of a 39,000-dalton protein in cells transformed by the FBJ murine osteosarcoma virus. *Virology* **1982**, *116* (1), 221-35.
53. Curran, T.; MacConnell, W. P.; van Straaten, F.; Verma, I. M., Structure of the FBJ murine osteosarcoma virus genome: molecular cloning of its associated helper virus and the cellular homolog of the v-fos gene from mouse and human cells. *Mol Cell Biol* **1983**, *3* (5), 914-21.
54. Hoffman, G.; Smith, M.; Verbalis, J., . c-Fos and Related Immediate Early Gene Products as Markers of Activity in Neuroendocrine Systems. *Frontiers in Neuroendocrinology* **1993**, 173-213.
55. Kovács, K., Invited review c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map. *Neurochemistry International* **1998**, 287-297.
56. Herdegen, T.; Leah, J. D., Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. *Brain Res Brain Res Rev* **1998**, *28* (3), 370-490.
57. Piechaczyk, M.; Blanchard, J., c-fos proto-oncogene regulation and function. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **1994**, 93-131.

58. Emmert, M. H.; Herman, J. P., Differential forebrain c-fos mRNA induction by ether inhalation and novelty: evidence for distinctive stress pathways. *Brain Research* **1999**, 60-67.
59. Cruz, F. C.; Javier Rubio, F.; Hope, B. T., Using c-fos to study neuronal ensembles in corticostriatal circuitry of addiction. *Brain Research* **2015**, 1628, 157-173.
60. Altman, J.; Das, G. D., Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* **1965**, 124 (3), 319-35.
61. Altman, J.; Das, G. D., Postnatal neurogenesis in the guinea-pig. *Nature* **1967**, 214 (5093), 1098-101.
62. Gould, E.; Reeves, A. J.; Graziano, M. S. A.; Gross, C. G., Neurogenesis in the Neocortex of Adult Primates. *Science* **1999**, 286 (5439), 548.
63. Eriksson, P. S.; Perfilieva, E.; Björk-Eriksson, T.; Alborn, A.-M.; Nordborg, C.; Peterson, D. A.; Gage, F. H., Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine* **1998**, 4 (11), 1313-1317.
64. Palmer, T. D.; Takahashi, J.; Gage, F. H., The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol Cell Neurosci* **1997**, 8 (6), 389-404.
65. Suhonen, J. O.; Peterson, D. A.; Ray, J.; Gage, F. H., Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons in vivo. *Nature* **1996**, 383 (6601), 624-7.
66. Balu, D. T.; Lucki, I., Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev* **2009**, 33 (3), 232-52.
67. Zhao, M.; Momba, S.; Delfani, K.; Carlen, M.; Cassidy, R. M.; Johansson, C. B.; Brismar, H.; Shupliakov, O.; Frisen, J.; Janson, A. M., Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003**, 100 (13), 7925-30.
68. Arias Carrión, O.; Olivares Bañuelos, T.; Drucker Colin, R., Neurogénesis en el cerebro adulto. *Neurología* **2007**, 541-550.
69. Mirzadeh, Z.; Merkle, F. T.; Soriano-Navarro, M.; Garcia-Verdugo, J. M.; Alvarez-Buylla, A., Neural stem cells confer unique pinwheel architecture to the ventricular surface in neurogenic regions of the adult brain. *Cell Stem Cell* **2008**, 3 (3), 265-78.
70. Morshead, C. M.; Reynolds, B. A.; Craig, C. G.; McBurney, M. W.; Staines, W. A.; Morassutti, D.; Weiss, S.; van der Kooy, D., Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron* **1994**, 13 (5), 1071-82.
71. Morshead, C. M.; van der Kooy, D., Postmitotic death is the fate of constitutively proliferating cells in the subependymal layer of the adult mouse brain. *J Neurosci* **1992**, 12 (1), 249-56.
72. Lois, C.; Alvarez-Buylla, A., Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1993**, 90 (5), 2074-7.
73. Kempermann, G., Activity Dependency and Aging in the Regulation of Adult Neurogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2015**, 7 (11).
74. Kozareva, D. A.; Cryan, J. F.; Nolan, Y. M., Born this way: Hippocampal neurogenesis across the lifespan. *Aging Cell* **2019**, 18 (5), e13007.
75. Rodríguez Ramírez, G.; Benítez King, G.; Kempermann, G., Formación de neuronas nuevas en el hipocampo adulto: neurogénesis. *Salud Mental* **2007**, 30 (3), 12-19.
76. Kempermann, G.; Jessberger, S.; Steiner, B.; Kronenberg, G., Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* **2004**, 27 (8), 447-52.
77. Luskin, M. B., Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* **1993**, 11 (1), 173-89.
78. Corotto, F. S.; Henegar, J. A.; Maruniak, J. A., Neurogenesis persists in the subependymal layer of the adult mouse brain. *Neurosci Lett* **1993**, 149 (2), 111-4.
79. Kaplan, M. S.; McNelly, N. A.; Hinds, J. W., Population dynamics of adult-formed granule neurons of the rat olfactory bulb. *J Comp Neurol* **1985**, 239 (1), 117-25.
80. Lois, C.; Garcia-Verdugo, J. M.; Alvarez-Buylla, A., Chain migration of neuronal precursors. *Science* **1996**, 271 (5251), 978-81.
81. Alvarez-Buylla, A.; Garcia-Verdugo, J. M.; Tramontin, A. D., A unified hypothesis on the lineage of neural stem cells. In *Nat Rev Neurosci*, England, 2001; Vol. 2, pp 287-93.
82. Lledo, P. M.; Alonso, M.; Grubb, M. S., Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci* **2006**, 7 (3), 179-93.
83. Jankovski, A.; Sotelo, C., Subventricular zone-olfactory bulb migratory pathway in the adult mouse: cellular composition and specificity as determined by heterochronic and heterotopic transplantation. *J Comp Neurol* **1996**, 371 (3), 376-96.
84. Braun, S. M.; Jessberger, S., Adult neurogenesis: mechanisms and functional significance. *Development* **2014**, 141 (10), 1983-6.
85. Ming, G.-L.; Song, H., Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* **2011**, 70 (4), 687-702.
86. Toni, N.; Schinder, A. F., Maturation and Functional Integration of New Granule Cells into the Adult Hippocampus. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2015**, 8 (1), a018903.
87. Song, H. J.; Stevens, C. F.; Gage, F. H., Neural stem cells from adult hippocampus develop essential properties of functional CNS neurons. *Nat Neurosci* **2002**, 5 (5), 438-45.



88. Cameron, H. A.; McKay, R. D., Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J Comp Neurol* **2001**, *435* (4), 406-17.
89. Stanfield, B. B.; Trice, J. E., Evidence that granule cells generated in the dentate gyrus of adult rats extend axonal projections. *Exp Brain Res* **1988**, *72* (2), 399-406.
90. Jessberger, S.; Gage, F. H., Adult neurogenesis: bridging the gap between mice and humans. *Trends Cell Biol* **2014**, *24* (10), 558-63.
91. Spalding, K. L.; Bergmann, O.; Alkass, K.; Bernard, S.; Salehpour, M.; Huttner, H. B.; Bostrom, E.; Westerlund, I.; Vial, C.; Buchholz, B. A.; Possnert, G.; Mash, D. C.; Druid, H.; Frisen, J., Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* **2013**, *153* (6), 1219-1227.
92. Ninkovic, J.; Gotz, M., Signaling in adult neurogenesis: from stem cell niche to neuronal networks. *Curr Opin Neurobiol* **2007**, *17* (3), 338-44.
93. Sun, J.; Ming, G. L.; Song, H., Epigenetic regulation of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Eur J Neurosci* **2011**, *33* (6), 1087-93.
94. Ma, D. K.; Marchetto, M. C.; Guo, J. U.; Ming, G. L.; Gage, F. H.; Song, H., Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Nat Neurosci* **2010**, *13* (11), 1338-44.
95. Kuhn, H. G.; Winkler, J.; Kempermann, G.; Thal, L. J.; Gage, F. H., Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. *J Neurosci* **1997**, *17* (15), 5820-9.
96. Rai, K. S.; Hattiangady, B.; Shetty, A. K., Enhanced production and dendritic growth of new dentate granule cells in the middle-aged hippocampus following intracerebroventricular FGF-2 infusions. *Eur J Neurosci* **2007**, *26* (7), 1765-79.
97. Aberg, M. A.; Aberg, N. D.; Palmer, T. D.; Alborn, A. M.; Carlsson-Skwirut, C.; Bang, P.; Rosengren, L. E.; Olsson, T.; Gage, F. H.; Eriksson, P. S., IGF-I has a direct proliferative effect in adult hippocampal progenitor cells. *Mol Cell Neurosci* **2003**, *24* (1), 23-40.
98. Schanzer, A.; Wachs, F. P.; Wilhelm, D.; Acker, T.; Cooper-Kuhn, C.; Beck, H.; Winkler, J.; Aigner, L.; Plate, K. H.; Kuhn, H. G., Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol* **2004**, *14* (3), 237-48.
99. Brezun, J. M.; Daszuta, A., Serotonin may stimulate granule cell proliferation in the adult hippocampus, as observed in rats grafted with foetal raphe neurons. *Eur J Neurosci* **2000**, *12* (1), 391-6.
100. Brezun, J. M.; Daszuta, A., Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience* **1999**, *89* (4), 999-1002.
101. Kulkarni, V. A.; Jha, S.; Vaidya, V. A., Depletion of norepinephrine decreases the proliferation, but does not influence the survival and differentiation, of granule cell progenitors in the adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci* **2002**, *16* (10), 2008-12.
102. Jagasia, R.; Steib, K.; Englberger, E.; Herold, S.; Faus-Kessler, T.; Saxe, M.; Gage, F. H.; Song, H.; Lie, D. C., GABA-cAMP response element-binding protein signaling regulates maturation and survival of newly generated neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci* **2009**, *29* (25), 7966-77.
103. Brown, J.; Cooper-Kuhn, C. M.; Kempermann, G.; Van Praag, H.; Winkler, J.; Gage, F. H.; Kuhn, H. G., Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci* **2003**, *17* (10), 2042-6.
104. Duman, R. S.; Monteggia, L. M., A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* **2006**, *59* (12), 1116-27.
105. Wong, E. Y.; Herbert, J., The corticoid environment: a determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci* **2004**, *20* (10), 2491-8.
106. Wong, E. Y.; Herbert, J., Roles of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the regulation of progenitor proliferation in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci* **2005**, *22* (4), 785-92.
107. Wong, E. Y.; Herbert, J., Raised circulating corticosterone inhibits neuronal differentiation of progenitor cells in the adult hippocampus. *Neuroscience* **2006**, *137* (1), 83-92.
108. Gratzner, H. G., Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication. *Science* **1982**, *218* (4571), 474-5.
109. Kee, N.; Sivalingam, S.; Boonstra, R.; Wojtowicz, J. M., The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. *Journal of Neuroscience Methods* **2002**, *115* (1), 97-105.
110. Seki, T.; Arai, Y., Highly polysialylated neural cell adhesion molecule (NCAM-H) is expressed by newly generated granule cells in the dentate gyrus of the adult rat. *J Neurosci* **1993**, *13* (6), 2351-8.
111. Scott, B. W.; Wojtowicz, J. M.; Burnham, W. M., Neurogenesis in the dentate gyrus of the rat following electroconvulsive shock seizures. *Exp Neurol* **2000**, *165* (2), 231-6.
112. Kolb, B.; Pedersen, B.; Ballermann, M.; Gibb, R.; Wishaw, I. Q., Embryonic and postnatal injections of bromodeoxyuridine produce age-dependent morphological and behavioral abnormalities. *J Neurosci* **1999**, *19* (6), 2337-46.
113. Scholzen, T.; Gerdes, J., The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *Journal of Cellular Physiology* **2000**, 311-322.
114. Sueishi, M.; Takagi, M.; Yoneda, Y., The forkhead-associated domain of Ki-67 antigen interacts with the novel kinesin-like protein Hklp2. *The Journal of Biological Chemistry* **2000**, *275* (37), 28888-28892.
115. Venneste, D.; Masatoshi, T.; Imamoto, N., The role of Hklp2 in the stabilization and maintenance of spindle bipolarity. *Current Biology* **2009**, *19* (20), 1712-1717.

116. Sahay, A.; Drew, M. R.; Hen, R., Dentate gyrus neurogenesis and depression. *Prog Brain Res* **2007**, *163*, 697-722.
117. Menard, C.; Hodes, E.; Russo, J., Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. *Neuroscience* **2016**, 138-162.
118. Association, A. P., *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®)*. American Psychiatric Publishing: 2013.
119. Jacobs, B. L., van Praag, H., and Gage, F. H., Adult brain neurogenesis and psychiatry: A novel theory of depression. *Mol. Psychiatry* **2000**, *5*, 262-269.
120. Swaab, D. F.; Bao, A.-M.; Lucassen, P., The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews* **2005**, 141-94.
121. Roy, A.; Campbell, M. K., A unifying framework for depression: bridging the major biological and psychosocial theories through stress. *Clinical and investigative medicine. Medecine clinique et experimentale* **2013**, *36* (4), E170-90.
122. Austin, M. P.; Mitchell, P.; Goodwin, G. M., Cognitive deficits in depression: possible implications for functional neuropathology. *Br J Psychiatry* **2001**, *178*, 200-6.
123. Fossati, P.; Coyette, F.; Ergis, A. M.; Allilaire, J. F., Influence of age and executive functioning on verbal memory of inpatients with depression. *J Affect Disord* **2002**, *68* (2-3), 261-71.
124. Bremner, J. D.; Narayan, M.; Anderson, E. R.; Staib, L. H.; Miller, H. L.; Charney, D. S., Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* **2000**, *157* (1), 115-8.
125. Stratmann, M.; Konrad, C.; Kugel, H.; Kircher, T.; Dannlowski, U., Insular and hippocampal gray matter volume reductions in patients with major depressive disorder. *PLoS one* **2014**, *9* (7), e102692-e102692.
126. Duman, R.; Nakagawa, S.; Malberg, J., Regulation of Adult Neurogenesis by Antidepressant Treatment. *Neuropsychopharmacology* **2001**, 836-844.
127. Malberg, J. E.; Eisch, A. J.; Nestler, E. J.; Duman, R. S., Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* **2000**, *20* (24), 9104-10.
128. Nestler, E. J.; Hyman, S. E., Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature Neuroscience* **2010**, *13*, 1161.
129. McKinney, W. T., Jr.; Bunney, W. E., Jr., Animal Model of Depression: I. Review of Evidence: Implications for Research. *JAMA Psychiatry* **1969**, *21* (2), 240-248.
130. Song, C.; Leonard, B. E., The olfactory bulbectomized rat as a model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **2005**, *29* (4), 627-647.
131. Krishnan, V.; Nestler, E. J., The molecular neurobiology of depression. *Nature* **2008**, *455* (7215), 894-902.
132. Bojsen-Moller, F., Demonstration of terminalis, olfactory, trigeminal and perivascular nerves in the rat nasal septum. *J Comp Neurol* **1975**, *159* (2), 245-56.
133. Brunjes, P. C., Lessons from lesions: The effects of olfactory bulbectomy. *Chemical Senses* **1992**, *17* (6), 729-763.
134. Kelly, J. P.; Wynn, A. S.; Leonard, B. E., The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: An update. *Pharmacology & Therapeutics* **1997**, *74* (3), 299-316.
135. Mar, A.; Spreekmeester, E.; Rochford, J., Fluoxetine-induced increases in open-field habituation in the olfactory bulbectomized rat depend on test aversiveness but not on anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* **2002**, *73* (3), 703-12.
136. Wang, D.; Noda, Y.; Tsunekawa, H.; Zhou, Y.; Miyazaki, M.; Senzaki, K.; Nabeshima, T., Behavioural and neurochemical features of olfactory bulbectomized rats resembling depression with comorbid anxiety. *Behav Brain Res* **2007**, *178* (2), 262-73.
137. Morales Medina, J.; Jarez, I.; Venancio Garcia, E.; Cabrera, S. N.; Menard, C.; Yu, W.; Flores, G.; Mechawar, N.; Quirion, R., Impaired structural hippocampal plasticity is associated with emotional and memory deficits in the olfactory bulbectomized rat. *Neuroscience* **2013**, *236*, 233-243.
138. Rinwa, P.; Kumar, A.; Garg, S., Suppression of Neuroinflammatory and Apoptotic Signaling Cascade by Curcumin Alone and in Combination with Piperine in Rat Model of Olfactory Bulbectomy Induced Depression. *PLoS ONE* **2013**, *8* (4), e61052.
139. Harkin, A.; Kelly, J.; Leonard, B., A review of the relevance and validity of olfactory bulbectomy as a model of depression. *Clinical Neuroscience Research* **2003**, 253-262.
140. Belzung, C.; Lemoine, M., Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biology of mood & anxiety disorders* **2011**, *1* (1), 9-9.
141. Capurso, S. A.; Calhoun, M. E.; Sukhov, R. R.; Mouton, P. R.; Price, D. L.; Koliatsos, V. E., Deafferentation causes apoptosis in cortical sensory neurons in the adult rat. *Journal of Neuroscience* **1997**, 7372-7384.
142. Balmus, I. M.; Ciobica, A.; Antioch, I.; Dobrin, R.; Timofte, D., Oxidative Stress Implications in the Affective Disorders: Main Biomarkers, Animal Models Relevance, Genetic Perspectives, and Antioxidant Approaches. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2016**, *2016*, 3975101.
143. Myint, A. M.; Steinbusch, H. W. M.; Goeghegan, L.; Luchtman, D.; Kim, Y. K.; Leonard, B. E., Effect of the COX-2 Inhibitor Celecoxib on Behavioural and Immune Changes in an Olfactory Bulbectomized Rat Model of Depression. *Neuroimmunomodulation* **2007**, *14* (2), 65-71.
144. Nesterova, I. V.; Gurevich, E. V.; Nesterov, V. I.; Otmakhova, N. A.; Bobkova, N. V., Bulbectomy-induced loss of raphe neurons is counteracted by antidepressant treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **1997**, *21* (1), 127-140.

145. Jarosik, J.; Legutko, B.; Unsicker, K.; Von, B.; Halbach, O., Antidepressant-mediated reversal of abnormal behavior and neurodegeneration in mice following olfactory bulbectomy. *Exp Neurol* **2007**, *204*, 20-8.
146. van der Stelt, H. M.; Breuer, M. E.; Olivier, B.; Westenberg, H. G. M., Permanent deficits in serotonergic functioning of olfactory bulbectomized rats: An in vivo microdialysis study. *Biological Psychiatry* **2005**, *57* (9), 1061-1067.
147. Jancsár, S. M.; Leonard, B. E., Changes in neurotransmitter metabolism following olfactory bulbectomy in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **1984**, *8* (2), 263-269.
148. Min, B.-K., A thalamic reticular networking model of consciousness. *Theoretical Biology and Medical Modelling* **2010**, *7* (1), 10.
149. Fuentealba, P.; Steriade, M., The reticular nucleus revisited: Intrinsic and network properties of a thalamic pacemaker. *Progress in Neurobiology* **2005**, *75* (2), 125-141.
150. van Riezen, H.; Leonard, B. E., Effects of psychotropic drugs on the behavior and neurochemistry of olfactory bulbectomized rats. *Pharmacology & Therapeutics* **1990**, *47* (1), 21-34.
151. Carere, C.; Maestripieri, D., Animal personalities: behavior, physiology, and evolution/edited by Claudio Carere and Dario Maestripieri. Chicago; London: The University of Chicago Press, 2013.: 2013.
152. Andrews, J. S.; Jansen, J. H.; Linders, S.; Princen, A.; Broekkamp, C. L., Performance of four different rat strains in the autoshaping, two-object discrimination, and swim maze tests of learning and memory. *Physiol Behav* **1995**, *57* (4), 785-90.
153. van der Staay, F. J.; Schuurman, T.; van Reenen, C. G.; Korte, S. M., Emotional reactivity and cognitive performance in aversively motivated tasks: a comparison between four rat strains. *Behavioral and Brain Functions* **2009**, *5* (1), 50.
154. Masoro, E. J., Mortality and growth characteristics of rat strains commonly used in aging research. *Exp Aging Res* **1980**, *6* (3), 219-33.
155. Altun, M.; Bergman, E.; Edstrom, E.; Johnson, H.; Ulfhake, B., Behavioral impairments of the aging rat. *Physiol Behav* **2007**, *92* (5), 911-23.
156. Hlavacova, N.; Bakos, J.; Jezova, D., Differences in home cage behavior and endocrine parameters in rats of four strains. *Endocrine regulations* **2006**, *40* (4), 113-118.
157. Malkesman, O.; Maayan, R.; Weizman, A.; Weller, A., Aggressive behavior and HPA axis hormones after social isolation in adult rats of two different genetic animal models for depression. *Behav Brain Res* **2006**, *175* (2), 408-14.
158. Ghirardi, O.; Cozzolino, R.; Guaraldi, D.; Giuliani, A., Within- and between-strain variability in longevity of inbred and outbred rats under the same environmental conditions. *Experimental gerontology* **1995**, *30* (5), 485-494.
159. Rex, A.; Voigt, J. P.; Gustedt, C.; Beckett, S.; Fink, H., Anxiolytic-like profile in Wistar, but not Sprague-Dawley rats in the social interaction test. *Psychopharmacology (Berl)* **2004**, *177* (1-2), 23-34.
160. Watson, J. B., Kinaesthetic and organic sensations: their role in the reactions of the white rat to the maze. *Psychol. Rev.* **1907**, *8*, 43-142.
161. H Emmert, M.; P Herman, J., Differential forebrain c-fos mRNA induction by ether inhalation and novelty: evidence for distinctive stress pathways. *Brain Research* **1999**, 60-67.
162. M Struthers, W.; DuPriest, A.; Runyan, J., Habituation reduces novelty-induced FOS expression in the striatum and cingulate cortex. *Experimental Brain Research* **2005**, 136-140.
163. Stepanichev, M.; Markov, D.; Pasikova, N.; Gulyaeva, N., Behavior and the cholinergic parameters in olfactory bulbectomized female rodents: Difference between rats and mice. *Behavioural Brain Research* **2016**, (297), 5-14.
164. Secretaría de Agricultura; Desarrollo Rural, P. y. A., NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-062-ZOO-1999, ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA LA PRODUCCIÓN, CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO. Servicio Nacional de Sanidad, I. y. C. A., Ed. Diario Oficial de la Federación, 1999.
165. Monfil, T.; Camacho-Abrego, I.; Tendilla-Beltran, H.; Iannitti, T.; Meneses-Morales, I.; Aguilar-Alonso, P.; Flores, G.; Morales Medina, J. C., Hyper-response to Novelty Increases c-Fos Expression in the Hippocampus and Prefrontal Cortex in a Rat Model of Schizophrenia. *Neurochemical Research* **2017**, *43* (2), 441-448.
166. Peitl, M. V.; Prolosic, J.; Blazevic-Zelic, S.; Skarpa-Usmiani, I.; Peitl, V., Symptoms of agitated depression and/or akathisia. *Psychiatr Danub* **2011**, *23* (1), 108-10.
167. Hitti, F. L.; Siegelbaum, S. A., The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature* **2014**, *508* (7494), 88-92.
168. Barth, A. M.; Domonkos, A.; Fernandez-Ruiz, A.; Freund, T. F.; Varga, V., Hippocampal Network Dynamics during Rearing Episodes. *Cell reports* **2018**, *23* (6), 1706-1715.
169. Spruijt, B. M.; van Hooff, J. A.; Gispen, W. H., Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol Rev* **1992**, *72* (3), 825-52.
170. Kalueff, A. V.; Stewart, A. M.; Song, C.; Berridge, K. C.; Graybiel, A. M.; Fentress, J. C., Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nature reviews. Neuroscience* **2016**, *17* (1), 45-59.
171. Cromwell, H. C.; Berridge, K. C., Implementation of action sequences by a neostriatal site: a lesion mapping study of grooming syntax. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **1996**, *16* (10), 3444-3458.
172. Berridge, K. C.; Whishaw, I. Q., Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. *Exp Brain Res* **1992**, *90* (2), 275-90.
173. Zamudio, S.; Fregoso, T.; Miranda, A.; De La Cruz, F.; Flores, G., Strain differences of dopamine receptor levels and dopamine related behaviors in rats. *Brain Res Bull* **2005**, *65* (4), 339-47.

174. Handa, R. J.; Nunley, K. M.; Bollnow, M. R., Induction of c-fos mRNA in the brain and anterior pituitary gland by a novel environment. *Neuroreport* **1993**, *4* (9), 1079-82.
175. Mulders, W. H.; Meek, J.; Schmidt, E. D.; Hafmans, T. G.; Cools, A. R., The hypothalamic paraventricular nucleus in two types of Wistar rats with different stress responses. II. Differential Fos-expression. *Brain Res* **1995**, *689* (1), 61-70.
176. Babai, P.; Anokhin, K. V.; Dolgov, N.; Sudakov, K. V., Characteristics of c-fos gene expression in the brains of rats with different investigative and defensive behaviors. *Neurosci Behav Physiol* **2001**, *31* (6), 583-8.
177. Nagahara, A. H.; Handa, R. J., Age-related changes in c-fos mRNA induction after open-field exposure in the rat brain. *Neurobiol Aging* **1997**, *18* (1), 45-55.
178. Granon, S.; Poucet, B., Medial prefrontal lesions in the rat and spatial navigation: evidence for impaired planning. *Behav. Neuroscience* **1995**, *109*, 474-484.
179. Muir, J. L., Attention and stimulus processing in the rat. *Cogn. Brain Res.* **1996**, *3*, 215-225.
180. Fryszak, R. J.; Neafsey, E. J., The effect of medial frontal cortex lesions on respiration, "freezing," and ultrasonic vocalizations during conditioned emotional responses in rats. *Cerebral Cortex* **1991**, *1* (5), 418-425.
181. Taylor, D. P.; Riblet, L. A.; Stanton, H. C.; Eison, A. S.; Eison, M. S.; Temple, D. L., Dopamine and antianxiety activity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **1982**, *17*, 25-35.
182. Prins, J.; Denys, D. A.; Westphal, K. G.; Korte-Bouws, G. A.; Quinton, M. S.; Schreiber, R.; Groenink, L.; Olivier, B.; Korte, S. M., The putative antidepressant DOV 216,303, a triple reuptake inhibitor, increases monoamine release in the prefrontal cortex of olfactory bulbectomized rats. *Eur J Pharmacol* **2010**, *633* (1-3), 55-61.
183. Van der Stelt, H. M.; Breuer, M. E.; Olivier, B.; Westenberg, H. G. M., Permanent deficits in serotonergic functioning of olfactory bulbectomized rats: an in vivo microdialysis study. *Biol. Psychiatry* **2005**, *57*, 1061-1067.
184. Jastrzębska, J.; Frankowska, M.; Szumiec, Ł.; Sadakierska-Chudy, A.; Haduch, A.; Smaga, I.; Bystrowska, B.; Daniel, W. A.; Filip, M., Cocaine self-administration in Wistar-Kyoto rats: a behavioral and biochemical analysis. *Behavioural Brain Research* **2015**, *293*, 62-73.
185. Takahashi, K.; Nakagawasai, O.; Nemoto, W.; Odaira, T.; Sakuma, W.; Tan-No, K., Antidepressant-like effect of aripiprazole via 5-HT<sub>1A</sub>, D<sub>1</sub>, and D<sub>2</sub> receptors in the prefrontal cortex of olfactory bulbectomized mice. *Journal of Pharmacological Sciences* **2018**, *137* (3), 241-247.
186. Moriguchi, S.; Han, F.; Nakagawasai, O.; Tadano, T.; Fukunaga, K., Decreased calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C activities mediate impairment of hippocampal long-term potentiation in the olfactory bulbectomized mice. *Journal of Neurochemistry* **2006**, *97* (1), 22-29.
187. Lemaire, V.; Arousseau, C.; Le Moal, M.; Abrous, D. N., Behavioural trait of reactivity to novelty is related to hippocampal neurogenesis. *European Journal of Neuroscience* **1999**, *11* (11), 4006-4014.