

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

CIENCIAS BIOLÓGICAS

**HIPONUTRICIÓN PERINATAL Y DEPRESIÓN: ESTUDIO DE LA
REVERSION DE LAS CONDUCTAS DEPRESIVAS FACILITADAS
POR LA INJURIA NUTRICIONAL TEMPRANA.**

Tesinista: Lucía Nasi Medeot

Firma:.....

Directora: Dra. Analía Valdomero

Firma:.....

Lugar de Trabajo: Dpto. de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas,

Universidad Nacional de Córdoba.

2017

HIPONUTRICIÓN PERINATAL Y DEPRESIÓN: ESTUDIO DE LA REVERSION DE LAS CONDUCTAS DEPRESIVAS FACILITADAS POR LA INJURIA NUTRICIONAL TEMPRANA.

Tribunal Examinador

Nombre y Apellido: Firma:

Nombre y Apellido: Firma:

Nombre y Apellido: Firma:

Calificación:

Fecha:

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. OBJETIVO GENERAL.....	10
Objetivos Especificos.....	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Esquema de deprivación proteica perinatal.....	11
Esquema de separación materna.....	12
Control del peso corporal.....	13
Paradigmas conductuales para el estudio de la reversión de las conducta depresivas.....	13
Análisis Estadístico.....	16
4. RESULTADOS.....	18
Efecto de la malnutrición proteica perinatal y la separación materna sobre el peso corporal de ratas adultas.....	18
Estudio de la reversión de la anhedonia en ratas pretratadas con DMI.....	18
Impacto de la hiponutrición perinatal sobre el efecto antidepresivo de DMI en la PNF.....	19
Efecto del tratamiento repetido con GM1 sobre el tiempo de inmovilidad en la prueba de natación forzada.....	20
5. DISCUSIÓN.....	22
6. BIBLIOGRAFÍA.....	28

HIPONUTRICIÓN PERINATAL Y DEPRESIÓN: ESTUDIO DE LA REVERSION DE LAS CONDUCTAS DEPRESIVAS FACILITADAS POR LA INJURIA NUTRICIONAL TEMPRANA.

PALABRAS CLAVE: hiponutrición proteica perinatal - deprivación materna temprana - depresión - DMI - GM1.

INTRODUCCIÓN

La desnutrición representa un gran problema a nivel mundial por su impacto social, económico y sanitario (Bellamy, 2005). Afecta a millones de niños en etapas tempranas de la vida, tales como la gestación y los primeros estadios del período postnatal temprano, produciendo efectos deletéreos e irreversibles. Es por esto que una correcta alimentación es fundamental para el desarrollo del individuo, siendo la nutrición uno de los derechos humanos básicos. En particular, el sistema nervioso central (SNC) es sumamente vulnerable a las deficiencias nutricionales durante su desarrollo. En éste sentido, existe un período crítico en la ontogénesis denominado *crecimiento cerebral explosivo*, durante el cual el cerebro crece a la máxima velocidad posible (Dobbing, 1972). Cualquier suceso ambiental temprano que interfiera, con la intensidad y duración apropiada, en el periodo crítico de desarrollo puede inducir cambios irreversibles en el cerebro (Dobbing, 1973). La nutrición es uno de los factores ambientales más relevantes, capaz de influir tanto en el feto como en el recién nacido, desempeñando un papel necesario en la maduración y desarrollo funcional del sistema nervioso central. Ha sido demostrado que la malnutrición temprana puede causar daños severos e incluso permanentes que se traducen en alteraciones neuroanatómicas, neuroquímicas y comportamentales que persisten en el individuo adulto incluso luego de largos periodos de recuperación nutricional (Morgane y col., 1993). Estudios clínicos indican que individuos afectados por malnutrición durante la niñez presentan manifestaciones de patologías psiquiátricas, principalmente depresión y cuadros psicóticos en un porcentaje mayor al resto de la población (Mokler y col., 2007; Morgane y col., 2002; Neugebauer y col., 1999; Susser y col., 1998). Además, Mokler y col. (2007) demuestran en sus estudios, que la

malnutrición proteica perinatal altera la respuesta dopaminérgica y serotoninérgica al estrés.

En particular, la depresión es un desorden frecuentemente relacionado al estrés. Estudios experimentales han demostrado que la exposición a estímulos estresantes en una etapa temprana del desarrollo, como la deprivación materna temprana, pueden inducir conductas depresivas en el animal adulto, tales como un incremento en el tiempo de inmovilidad en la prueba de natación forzada y una preferencia significativamente reducida por sucrosa (Matthews y Robbins, 2003; Frye y Wawrzycki, 2003; Alonso y col., 1991, 2000; Matthews y col., 1996). A nivel neurobiológico se ha descrito una reducción en los niveles de neurotrofinas (NTs) en hipocampo ventral (Marais y col., 2008). Por otro lado, estudios previos confirman un aumento en la muerte celular en hipocampo y corteza prefrontal, así como una disminución en la neurogénesis en hipocampo en ratas que sufrieron separación materna en edades tempranas (Mirescu y col., 2004; Zhang y col., 2002). No obstante, el estrés *per se*, no es suficiente para causar depresión, la cual sería el resultado de la interacción entre factores ambientales y genéticos. En relación a los factores no genéticos o ambientales, se ha postulado que el estrés, traumas emocionales, infecciones virales, malnutrición prenatal durante el desarrollo cerebral estarían implicados en la etiología de la depresión. Muchos de estos factores, suceden también en el contexto de innumerables condiciones médicas, tales como trastornos endócrinos, enfermedades vasculares, lesiones traumáticas en la cabeza, Parkinson, algunos tipos de cáncer, asma, diabetes, accidentes cerebro vascular, entre otros desarrollando conductas depresivas (Nestler y col., 2002).

Según el Manual de Diagnóstico y Estadística de los Trastornos Mentales (DSM-V), dentro de los trastornos del estado de ánimo se encuentran los trastornos depresivos o unipolares, los cuales se clasifican en:

1. Trastorno Depresivo Mayor
2. Trastorno Distímico
3. Trastorno Depresivo no Especificado

En este trabajo nos centraremos en la “Depresión Mayor” referida comúnmente como depresión. Se considera que el paciente posee un trastorno de depresión mayor cuando presenta dos o más episodios depresivos mayores en su curso clínico, sin

historia de episodios maníacos, mixtos o hipomaníacos. La característica esencial de un episodio depresivo mayor es un período de al menos dos semanas, durante el que hay un estado de ánimo deprimido o una pérdida de interés o placer en casi todas las actividades (anhedonia). El sujeto también debe experimentar al menos otros cuatro síntomas de una lista que incluye: irritabilidad, baja autoestima; sentimientos de desesperación, inutilidad y culpa; disminución en la capacidad de concentración y pensamiento, disminución o aumento del apetito, pérdida o aumento del peso corporal, insomnio o hipersomnio; poca energía, fatiga o agitación; pensamientos recurrentes de muerte y suicidio. Para realizar el diagnóstico de un trastorno depresivo mayor, los síntomas deben generar un malestar clínicamente significativo o perturbar el funcionamiento social y ocupacional normal. No se tienen en cuenta los síntomas inducidos por sustancias ni debidos a enfermedades médicas (DSM-V, 2015).

En la actualidad el circuito neuronal que subyace al desorden depresivo no está completamente dilucidado. Ha sido propuesto que diferentes estructuras cerebrales mediarían los diversos síntomas asociados a la depresión, entre las cuales se encuentran: hipocampo, corteza prefrontal, hipotálamo, amígdala, área tegmental ventral (VTA) y núcleo accumbens (NAc). Dichas estructuras se interconectan entre sí operando en conjunto (Yu y Chen, 2011). De tal manera, el hipocampo y la corteza prefrontal al regular las funciones de aprendizaje, memoria, atención y control del impulso, serían responsables de los aspectos cognitivos de la depresión tales como el deterioro de la memoria y sentimientos de desesperación y culpa, entre otros. El NAc y la amígdala son áreas que tienen una participación relevante en la memoria emocional, y se postula que mediarían la anhedonia, la ansiedad y la falta motivación observada en individuos depresivos. Cambios en el hipotálamo probablemente contribuirían en las alteraciones del apetito y en síntomas autonómicos (Nestler y col., 2002; Yu y Chen, 2011). Se ha postulado que la vía dopaminérgica también participa en la regulación del humor. En modelos animales de depresión se ha demostrado, que el estrés activa neuronas dopaminérgicas con somas en VTA, potenciando de esta forma la neurotransmisión a NAc y otras estructuras límbicas, estimulando la liberación de DA y neurotrofinas (BDNF) (Nestler y Carlezon, 2006).

Según la hipótesis neurotrófica, una deficiencia en el soporte neurotrófico puede contribuir al desarrollo del trastorno depresivo (Nestler y col., 2002). Las neurotrofinas son factores tróficos que constituyen una familia de péptidos relacionados. Durante la embriogénesis, éstas cumplen un rol fundamental en la neurogénesis, sinaptogénesis, diferenciación y migración celular. En la vida adulta, cumplen un rol relacionado a la supervivencia y plasticidad neuronal tal como, la potenciación neuronal a largo plazo, el aprendizaje y la memoria. La estimulación repetida de las neuronas aumenta la expresión, secreción y actividad de estos factores sobre la transmisión sináptica (Mendoza Bermúdez, 2012). Se plantea en dicha hipótesis que un soporte neurotrófico inapropiado durante el desarrollo cerebral, conduciría a una desorganización y mal funcionamiento en la red neuronal. En última instancia, este soporte neurotrófico inadecuado en el individuo adulto, se manifestaría como un mecanismo subyacente que conduce a una disminución de la capacidad cerebral para adaptarse ante los cambios (Angelucci y col., 2005). Entre los factores neurotróficos se incluye: el factor de crecimiento neuronal (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), neurotrofina 3 (NT-3), NT-4/5 y NT-6 como sus siglas en inglés. Dichos factores median sus efectos al actuar de manera específica y diferencial sobre los receptores tirosina-kinasa (Trk), dentro los cuales se incluyen TrkA, TrkB y TrkC (Mendoza Bermúdez, 2012).

El factor neurotrófico BDNF tiene una participación relevante en la fisiopatología de la depresión. Éste es un mediador implicado en la supervivencia y plasticidad de neuronas dopaminérgicas, colinérgicas y serotoninérgicas en el cerebro adulto, presentando así un rol diferencial de acuerdo a las modificaciones en su expresión en el circuito neuronal de depresión. Estudios realizados en humanos como así también en modelos animales de depresión, han descripto una disminución de BDNF y su receptor de alta afinidad tirosina-kinasa B (TrkB) en hipocampo y corteza prefrontal (Angelucci y col., 2005; Yu y Chen, 2011). De manera opuesta, se ha informado un incremento en los niveles de BDNF en NAc y amígdala (Autry y col., 2012; Krishnan y col., 2007).

Ha sido demostrado que tratamientos prolongados con antidepresivos, mediante la regulación de la cascada del AMPc, CREB y BDNF, podrían revertir o bloquear el daño neuronal y la atrofia de poblaciones neuronales vulnerables

actuando a nivel de la citoarquitectura y supervivencia neuronal (Vaidya y Duman, 2001; Arantes Gonçalves y Coelho, 2006). De forma que, los tratamientos con antidepresivos podrían contribuir a la resolución de los síntomas depresivos, siendo las neurotrofinas las mediadoras de su mecanismo de acción (Nestler y col., 2002; Yu y Chen, 2011). Así mismo se ha informado que en modelos animales de depresión, la infusión local a nivel del mesencéfalo e hipocampo del factor neurotrófico BDNF ejerce efectos antidepresivos (Siuciak y col., 1997; Shirayama y col., 2002), tal como la reducción en el tiempo de inmovilidad en el test de natación forzada (Shirayama y col., 2002).

No todos los pacientes diagnosticados con depresión responden al tratamiento con antidepresivos, y la respuesta terapéutica requiere varias semanas o meses (Shirayama y col., 2002). En particular, la Desipramina (DMI) es un antidepresivo tricíclico que se recomienda para este tipo de pacientes con resistencia al tratamiento convencional (Obuchowicz y col., 2016). DMI es principalmente un inhibidor de la recaptación de noradrenalina, que presenta además débiles efectos de bloqueo en la recaptación de serotonina en neuronas presinápticas (Gillman, 2007; Connor y col., 1997; Blier and Montigny, 1994; PGA-IV, 2011). Además, estudios experimentales han demostrado que DMI genera un aumento en la neurotransmisión de dopamina en corteza frontal (PGA-IV, 2011). Liu y col. (2014) ven una reversión de conductas depresivas en ratas tratadas con desipramina (10mg/kg), en pruebas de preferencia a sucrosa y natación forzada. De igual forma describen un aumento en los niveles de BDNF en hipocampo y amígdala.

Por otra parte, trabajos realizados in vitro demostraron que los gangliosidos, familia heterogénea de glicoesfingolípidos abundantes en el cerebro, y en particular el GM1 (monosialotetrahexosylgangliosido) poseen propiedades similares a las neurotrofinas (Mocchetti, 2005). Estudios in vivo empleando GM1 exógeno, han demostrado que la administración intraperitoneal de éste es capaz de acelerar la recuperación funcional en nervios dañados y restaurar la excitabilidad del tejido nervioso cerebral (Ceccarelli y col., 1976). La actividad neurotrófica de GM1 estaría mediada por la activación de los receptores específicos para neurotrofinas. De esta manera, se ha demostrado que GM1 activa e induce la fosforilación de los receptores tirosina-kinasa (A, B y C) en cuerpo estriado, hipocampo y corteza frontal (Rabin y

col., 2002; Duchemin y col., 2002). En ese sentido un estudio *in vivo* realizado en nuestro laboratorio indica que la administración exógena del gangliosido GM1 incrementa los niveles de BDNF en NAc (Valdomero y col., 2015), y está de acuerdo con lo expuesto por Lim y col. (2011) quienes demostraron que el GM1 induce la liberación de BDNF en cultivo de neuronas hipocampales.

Resultados obtenidos en nuestro laboratorio indicaron que la hiponutrición temprana incrementa el riesgo de anhedonia, uno de los principales síntomas de depresión, y facilita la ocurrencia de conductas depresivas en ratas adultas expuestas a separación materna. Además, observaciones preliminares sugieren que la vía de señalización BDNF/TrkB tendría un rol clave en la facilitación de anhedonia inducida por la malnutrición proteica perinatal.

En base a los resultados antes mencionados respecto de la implicancia de BDNF en la fisiopatología de la depresión, a que ha sido demostrado que sería una proteína “target” de los agentes antidepresivos (Nestler et al, 2002, Hashimoto et al, 2004), y que GM1 incrementa los niveles de BDNF en diferentes estructuras del circuito neuronal de depresión, resulta interesante estudiar la posible reversión de los cambios encontrados a nivel conductual mediante la administración sistémica de DMI y del gangliosido GM1.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo del presente proyecto es estudiar la participación del factor neurotrófico BDNF en la facilitación de las conductas depresivas inducidas por el déficit nutricional temprano.

OBJETIVO ESPECÍFICO

- 1) Estudiar la reversión de la anhedonia y la depresión del humor facilitada por la malnutrición temprana luego del tratamiento crónico con desipramina.
- 2) Evaluar la reversión de la depresión del humor facilitada por la malnutrición temprana luego de la administración repetida del gangliosido GM1.

MATERIALES Y MÉTODOS

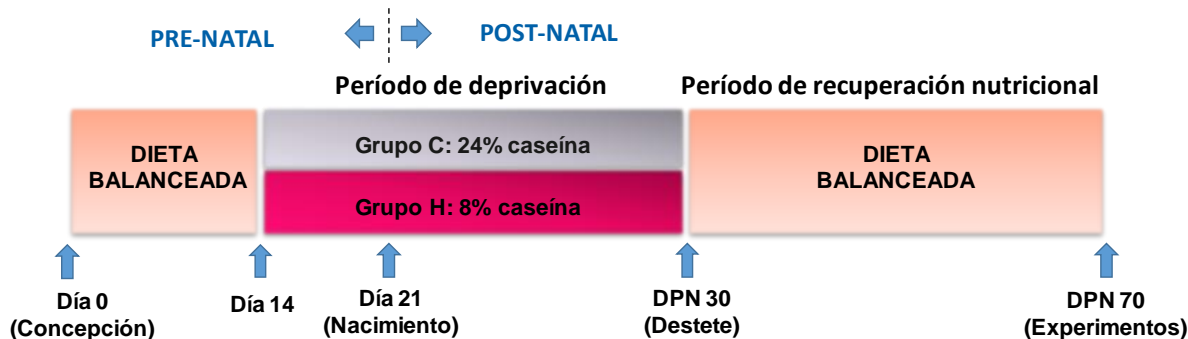
Animales

En los experimentos se emplearon ratas macho adultas de la cepa Wistar criadas en nuestro bioterio, sometidas a un esquema de deprivación proteica perinatal y a separación materna temprana. Los animales fueron mantenidos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ con ciclos de luz-oscuridad de 12 hs (a partir de las 7:00 am.) y con libre acceso de agua y comida. Los experimentos y el mantenimiento de las ratas fueron efectuados de acuerdo con las normas establecidas por la “*NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals*” (National Research Council, USA, 2010).

Esquema de deprivación proteica perinatal

Ratas adultas preñadas fueron divididas en dos grupos a los 14 días de gestación, colocadas en cajas plásticas individuales y alimentadas con dietas isocalóricas que contienen un 24% o un 8% de caseína para controles (C) e hiponutridas (H), respectivamente. Ambas dietas fueron suplementadas con 4 g/kg de DL-metionina dado que la caseína es pobre en este aminoácido. Producido el parto, las camadas se ajustan a 8 crías por madre y hasta el destete (30 días de edad) las madres son mantenidas con las dietas respectivas (fin del periodo de deprivación nutricional). A partir de ese momento, ambos grupos (C y H), son alimentados con dieta balanceada comercial (GEPESA FEEDS, Pilar, Cba) por al menos 40 días antes de la realización de los experimentos programados (periodo de recuperación nutricional) (Figura 1A).

A)



B)

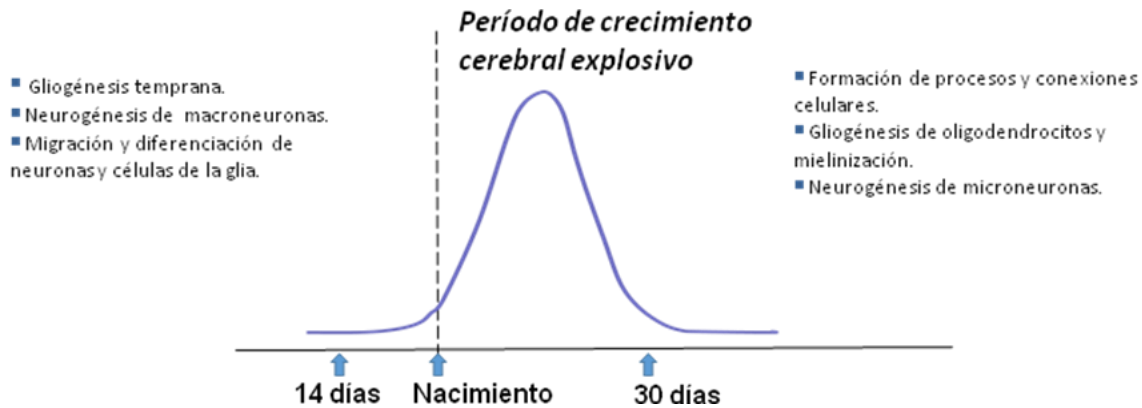


Figura 1. A) Representación del esquema de deprivación proteica perinatal, destacando los principales eventos y el orden cronológico de los mismos. C: grupo control, H: hiponutridos, DPN: día posnatal. **B)** Procesos fundamentales durante la ontogénesis del SNC. La curva representa el curso temporal del desarrollo del cerebro en función de la ganancia en peso. Notar que en la rata el período de crecimiento cerebral explosivo es principalmente post-natal.

En todos los casos, los grupos experimentales fueron formados por animales provenientes de distintas camadas, de manera de evitar grupos constituidos preponderantemente por animales consanguíneos.

Esquema de separación materna temprana

La separación materna en roedores es considerado como uno de los estresores más potentes durante el desarrollo, pudiendo conducir a permanentes alteraciones neuroconductuales y a un aumento de la susceptibilidad a trastornos psiquiátricos tal como la depresión mayor (Réus y col, 2011).

De acuerdo al protocolo propuesto por Réus y col, 2011, la mitad de los animales de los grupos C y H fueron separados diariamente de sus madres por 180 minutos a partir del día posnatal 1 hasta el posnatal 10 (Figura 2). Las madres fueron removidas de su caja de residencia, colocadas en una caja con viruta y llevadas a una habitación contigua. Finalizado el período de separación las mismas retornaron a la caja con sus respectivas crías. Las crías fueron mantenidas en sus cajas, agrupadas en nido y en presencia del olor materno.

Este procedimiento se llevo a cabo durante la mañana (entre las 9:00 a.m y 13:00 p.m.).

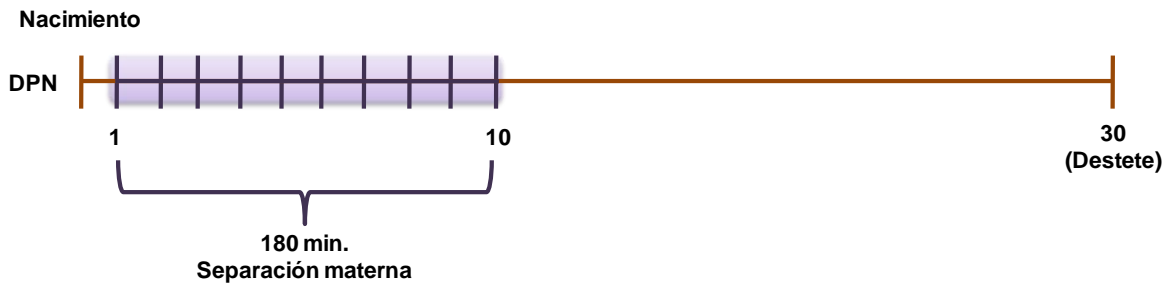


Figura 2. Esquema de separación materna temprana. *Día Postnatal* (DPN).

La mitad restante de animales C y H restantes permanecieron en sus cajas de residencia con sus madres. Solo después del DPN 11 las cajas fueron cambiadas y limpiadas normalmente siguiendo la rutina del laboratorio.

Tras la aplicación de ambos esquemas quedaron definidos los siguientes grupos experimentales:

- 1) Animales control (24 %) no expuestos a separación materna (C-NSM)
- 2) Animales control (24%) sometidos a separación materna (C-SM)
- 3) Animales hiponutridos (8 %) no expuestos a separación materna (H-NSM)
- 4) Animales hiponutridos (8 %) sometidos a separación materna (H-SM)

Control del peso corporal

Antes de realizar las evaluaciones conductuales correspondientes y durante el desarrollo de estas, se registro el peso corporal de los animales. Se tomó el peso inicial (primer peso registrado antes de las pruebas conductuales) para realizar las comparaciones entre los distintos tratamientos (controles e hiponutridas -SM y -NSM).

Paradigmas conductuales para el estudio de la reversión de las conducta depresivas

Prueba de preferencia a sucrosa

La sucrosa es una sustancia agradable para el animal. Mientras los animales control muestran una preferencia en relación a la ingesta de agua, en ratas

hiponutridas se ha observado una reducción significativa en su consumo. A fin de evaluar la reversión de la anhedonia inducida por la malnutrición temprana, animales de los grupos C (-NSM y -SM) y H (-NSM y -SM) fueron sometidos a diferentes esquemas de tratamiento que incluyeron la administración repetida (i.p.) de

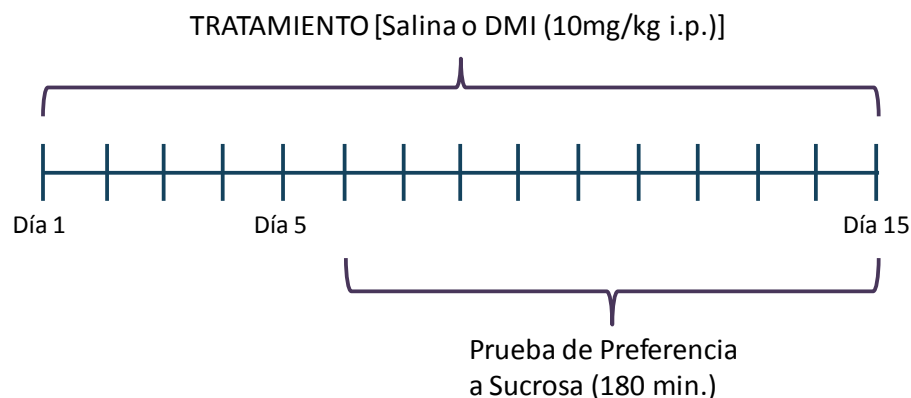
a) solución salina (1 ml/kg)

b) DMI (10 mg/kg)

Los animales fueron tratados durante 15 días con DMI o salina de acuerdo a lo mencionado anteriormente, y a partir del día 6 comenzaron los registros para evaluar la preferencia a sucrosa. Las ratas fueron inyectadas una hora antes de la evaluación diaria, y colocadas durante 3 horas en cajas individuales con acceso a 2 probetas graduadas (50ml) ubicadas una al lado de la otra. Una de ellas contenía una solución de sucrosa al 1% y la otra agua (Figura 3 A y B) (Zurita y col., 1996). La posición de las mismas se fue alternando a fin de evitar habituación.

La preferencia a sucrosa se obtuvo de la relación entre la [cantidad consumida de sucrosa y la cantidad total de líquido consumida (sucrosa + agua)] x 100%.

A)



B)



Figura 3. A) Esquema de administración de los tratamientos correspondientes en relación al comienzo de la prueba de preferencia a sucrosa. *Desipramina* (DMI). **B)** Prueba de preferencia de Sucrosa. El animal es mantenido en una caja individual y tiene la opción de elegir entre el consumo de sucrosa (1%) o agua.

Prueba de natación forzada:

La prueba de natación forzada (PNF) es una prueba de comportamiento en roedores desarrollada en 1978 por Porsolt y col. como un modelo para predecir la eficacia clínica de los fármacos antidepresivos. En esta prueba se somete al animal a un evento estresante inescapable, cuando un animal es introducido por primera vez en el cilindro con agua, nada vigorosamente durante un tiempo, para luego adoptar una postura característica de inmovilidad con los mínimos movimientos necesarios para mantener la cabeza o al menos el hocico fuera del agua. En este estudio se utilizó el método original el cual consta de dos fases, “*pretest*” y “*test*” (Figura 4A).

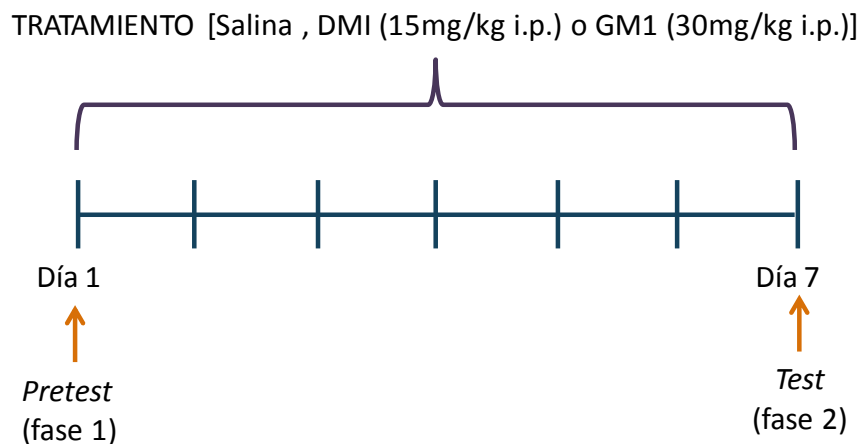
En la primera fase los animales fueron individualmente forzados a nadar en un cilindro vertical de plexiglás (40 cm de altura x 18 cm de ancho) que contenía agua (24 ± 2 °C) con una profundidad de 20 cm. Transcurridos 15 minutos, se retiró la rata, se secó y se devolvió a su caja de residencia (*pretest*). La primera inyección se efectuó 30 minutos después del secado del animal.

Durante el séptimo día de tratamiento, una hora después de la última inyección, los animales se introdujeron nuevamente en el cilindro y se registró durante 5 minutos el tiempo que permanece inmóvil (fase 2 o “*test*”). Todos los *test* fueron registrados con una cámara de video individualmente y se evaluó el tiempo de inmovilidad, nado y escalada. Se considera que la inmovilidad es un índice de desesperación y depresión del humor (Figura 4B).

Diferentes grupos de animales C (-NSM y -SM) y H (-NSM y -SM) fueron tratados diariamente durante 7 días con:

- a) solución salina (1 ml/kg)
- b) desipramina (15 mg/kg)
- c) GM1 (30mg/kg)

A)



B)

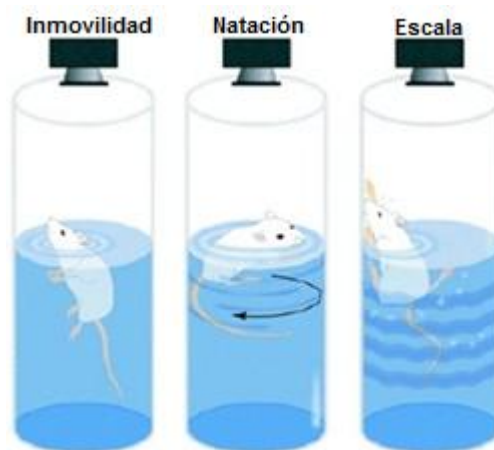


Figura 4. A) Administración de los tratamientos en función a los días que se realizó la prueba de natación forzada. Cabe aclarar que la primer inyección se le aplico a la rata media hora después del *pretest*, y la ultima inyección una hora antes de la segunda fase. *Desipramina* (DMI), *Gangliosido* (GM1). **B)** Esquematzación de las conductas registradas durante las prueba.

Análisis Estadístico

Los datos experimentales obtenidos en las pruebas de preferencia a sucrosa y natación forzada fueron analizados empleando ANOVA de tres vías (dieta x

separación materna x droga). Para el análisis post-hoc se utilizó el test Fisher. Los resultados se expresan como las medias \pm E.M.S. Se consideró que un valor de $p \leq 0.05$ representa diferencia significativa. Para el análisis se utilizó el programa Statistica versión 8.0.

RESULTADOS

Efecto de la malnutrición proteica perinatal y la separación materna sobre el peso corporal de ratas adultas.

Los animales fueron pesados antes de comenzar la evaluación conductual correspondiente (PND 70).

Un ANOVA de dos vías de los datos obtenidos reveló el efecto de la dieta ($F_{1,102}=50.87$, $p<0.001$) y de la separación materna ($F_{1,102}=5.74$, $p<0.02$). El análisis *post-hoc* indicó una marcada disminución en el peso corporal de ratas H (-NSM, -HSM) respecto al grupo C (-NMS, -SM) ($p<0.001$). Dentro del grupo de animales H, se observó una disminución significativa en el peso corporal de animales H-SM comparados con animales H-NSM ($p<0.01$, Figura 5).

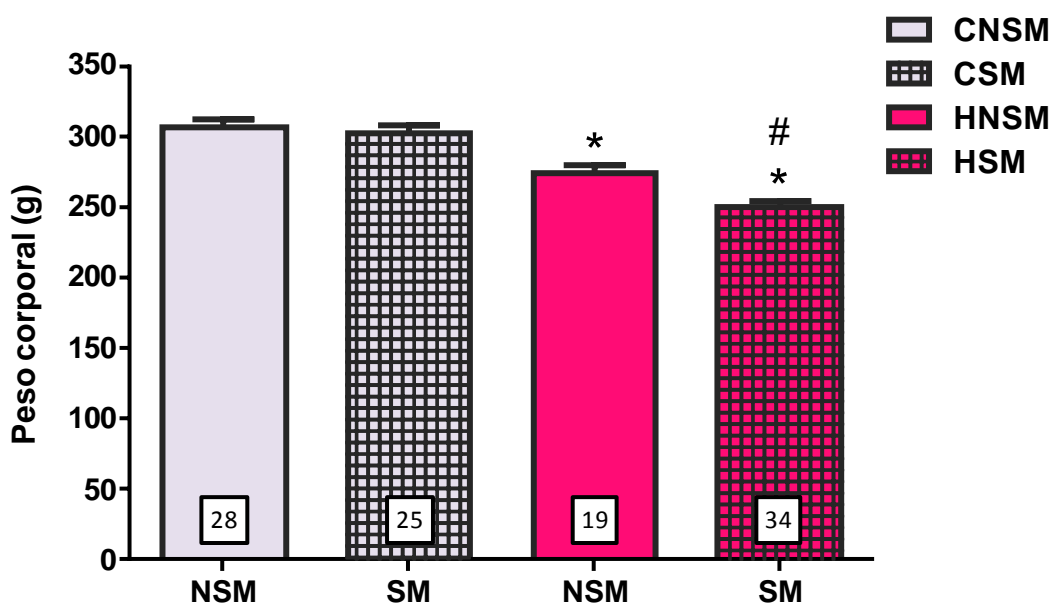


Figura 5. Efectos de la deprivación proteica perinatal y la separación materna en el peso de ratas Wistar. Los valores representan el peso promedio \pm E.S.M. * $p<0.001$ vs grupos controles. # $p<0.01$ vs HNSM.

Estudio de la reversión de la anhedonia en ratas pretratadas con DMI.

En la figura 6 se encuentra representada la preferencia a sucrosa durante los 10 días de registro conductual para cada uno de los grupos evaluados.

De acuerdo con lo observado previamente en nuestro laboratorio, los animales hiponutridos (-NMS y -MS) pretratados con salina presentaron una menor preferencia a sucrosa comparado con las ratas C ($F_{1,76}=6.20$, $p\leq 0.01$). Por otro lado, el análisis estadístico mostró un aumento significativo en el índice de preferencia a sucrosa en

ratas H (-NSM y -SM) tratadas con DMI comparadas con las tratadas con salina ($F_{1,143}=7.8$, $p<0.01$). Sugiriendo, de esta forma, que el tratamiento con DMI, revierte la anhedonia inducida por la injuria nutricional temprana.

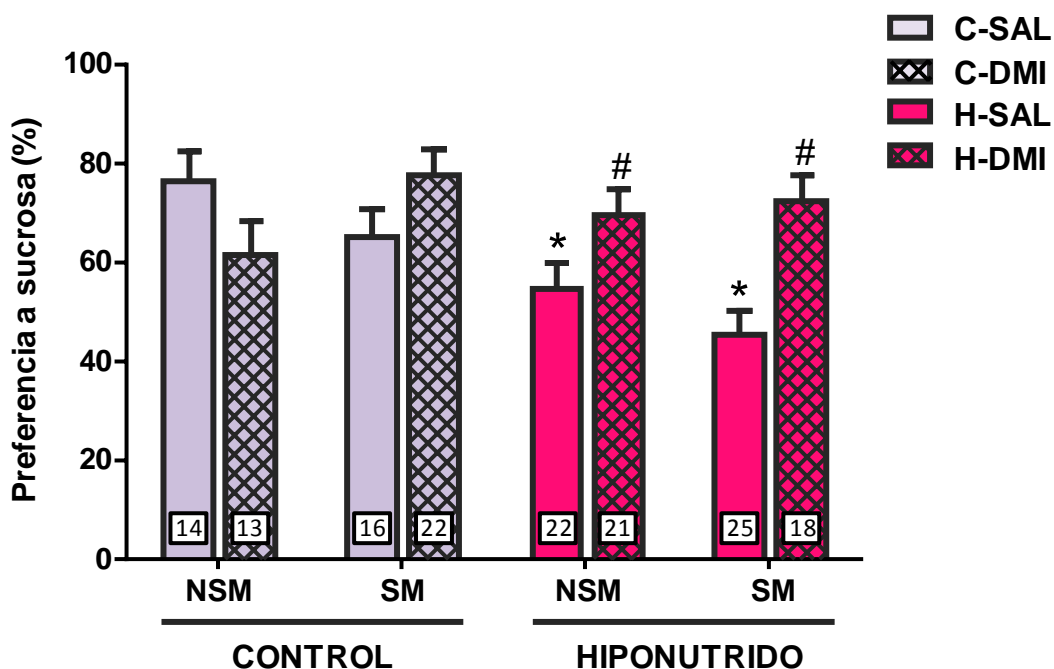


Figura 6. Efecto del tratamiento con DMI sobre la preferencia a sucrosa evaluada durante 10 días. Se observa el consumo de sucrosa del día 6 al 10. Las barras representan el porcentaje promedio de sucrosa consumida respecto al consumo total de líquido \pm E.S.M. * $p<0.01$ vs su respectivo control salina. # $p<0.05$ vs su respectivo grupo tratado con salina.

Impacto de la hiponutrición perinatal sobre el efecto antidepresivo de DMI en la PNF.

En la figura 7 se encuentra representado el tiempo de inmovilidad en la prueba de natación forzada de los diferentes grupos de animales C y H (-NSM y -SM) tratados con salina o DMI durante 7 días. El análisis de los datos obtenidos en la PNF indicó un efecto del tratamiento con DMI ($F_{1,12}=205.0$, $p<0,001$). De esta forma, tanto animales C (-NSM y -SM) como H (-NSM y -SM) tratados con DMI mostraron un marcado descenso del tiempo de inmovilidad comparados con sus respectivos grupos tratados con salina ($p<0.001$). Sin embargo, los animales H-SM presentaron un tiempo de inmovilidad significativamente mayor al resto de los grupos (C- NSM, C- SM y H-SNM). Sugiriendo, que la malnutrición proteica temprana provocaría una

atenuación del efecto antidepressivo de DMI en animales sometidos a separación materna temprana.

Además, y de acuerdo con lo observado previamente en nuestro laboratorio, los animales H-SM pretratados con salina presentan un tiempo de inmovilidad significativamente mayor comparado con el grupo C ($p < 0.05$).

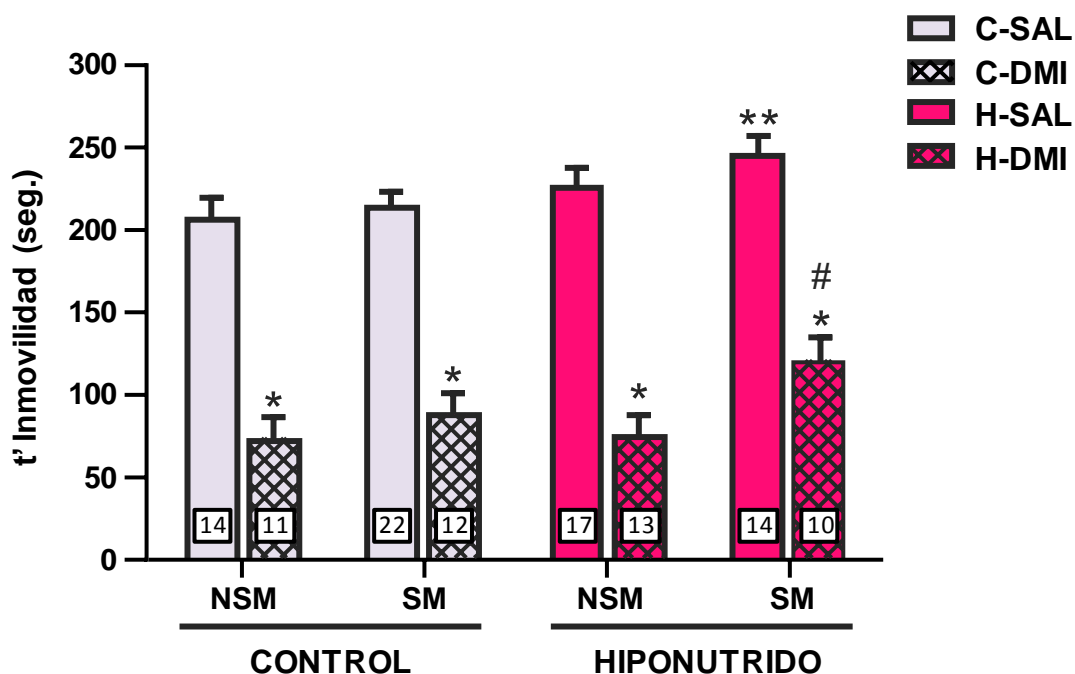


Figura 7. Efecto del tratamiento con DMI sobre el tiempo de inmovilidad en la PNF. Las barras representan el tiempo de inmovilidad en segundos \pm E.M.S. * $p < 0.001$ vs su respectivo grupo salina. ** $p < 0.05$ vs CNSM tratado con salina. # $p < 0.05$ vs grupos tratados con DMI.

Efecto del tratamiento repetido con GM1 sobre el tiempo de inmovilidad en la prueba de natación forzada

La figura 8 muestra el efecto del tratamiento repetido con GM1 (30 mg/kg/ día durante 7 días) sobre la PNF en animales C (-NMS y -MS) y H (-NMS y -MS). El análisis estadístico de estos resultados mostró una interacción significativa de la dieta vs droga ($F_{1,52}=5.73$, $p < 0.05$) y de la separación materna vs droga ($F_{1,52}=4.17$, $p < 0.05$). Se observó que la administración de GM1 indujo una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad solo en el grupo H-SM ($p < 0.05$). De manera similar a lo observado previamente, el grupo H-SM presentó un incremento

significativo en el tiempo de inmovilidad en comparación con el grupo C-NMS ($p < 0.05$).

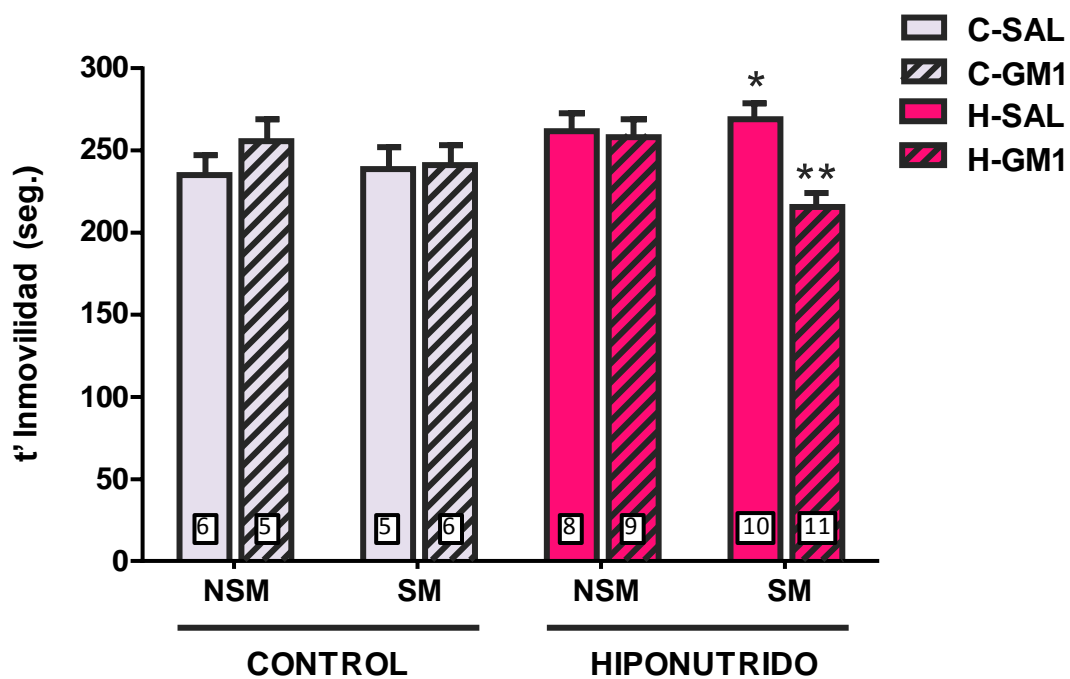


Figura 11. GM1 induce efecto antidepresivo en ratas HSM. Las barras representan el tiempo de inmovilidad en segundos \pm E.M.S. * $p < 0.05$ vs CNSM tratado con salina. ** $p < 0.05$ vs HSM tratado con salina.

DISCUSIÓN

Diversas evidencias experimentales demuestran que la malnutrición proteica temprana produce alteraciones a nivel anatómico, neurológico, neuroquímico y comportamental, causando daños severos e incluso permanentes en el cerebro adulto (Keller y col., 1982; Morgane y col., 1993; Valdomero y col., 2005).

Teniendo en cuenta resultados previos de nuestro laboratorio, los cuales demostraron que la hiponutrición perinatal facilita conductas depresivas en ratas adultas expuestas a separación materna, este trabajo se enfocó en el estudio de la reversión de la anhedonia y la depresión del humor facilitado por la malnutrición temprana. En base a la literatura que indica que los tratamientos con antidepresivos incrementarían los niveles de BDNF en corteza prefrontal (Balu y col., 2008) e hipocampo y amígdala (Liu y col., 2014), lo descrito por Valdomero y col. (2015) y Lim y col. (2011) que indican que GM1 aumenta los niveles de BDNF en NAc e hipocampo respectivamente, nos propusimos evaluar la reversión de las conductas antes mencionadas luego del tratamiento crónico con DMI y GM1 con el fin de inferir la participación del factor neurotrófico BDNF en la facilitación de conductas depresivas. De esta forma, animales controles e hiponutridos (-SM y -NSM) fueron sometidos a una serie de pruebas conductuales durante las cuales, se les administró por vía intraperitoneal y de manera repetida DMI o GM1 según correspondiera.

Previo al inicio de la evaluación conductual, los animales de los diferentes grupos fueron pesados. Los resultados obtenidos, indicaron una diferencia significativa del peso corporal en ratas hiponutridas comparado con animales controles, coincidiendo con reportes previos que señalan una disminución del peso en animales hiponutridos que persiste luego de un prolongado periodo de recuperación nutricional (Barnes y col., 1968; Marichich y col., 1979; Valdomero y col., 2005). Además, se observó que las ratas H-SM tenían un peso corporal significativamente menor que las H-NSM. Estos resultados coinciden con trabajos científicos recientes, que demuestran un decrecimiento significativo en el peso corporal de ratas sometidas a separación materna que persiste en la adolescencia y adultez (Lee y col., 2007; Llorente y col., 2007; Viveros y col., 2009; Peñasco y col., 2015). Sugiriendo que la falta de ingestión de leche materna durante el periodo de separación no es el único factor que generaría una disminución en el peso. Viveros y

col. (2009) proponen que una reducción marcada en los niveles de leptina plasmática (y un aumento de corticoesterona) encontrados en ratas neonatales separadas de la madre podría afectar el desarrollo metabólico de los circuitos hipotalámicos que regulan el equilibrio energético. Sin embargo, otro estudio a la fecha indica que si bien hay una disminución inmediata del peso corporal en las crías luego de la separación materna, estas recuperan su peso al llegar a la adultez (Derks y col., 2016). Dado que no se ha encontrado diferencia del peso corporal entre los grupos controles (-SM y -NSM) pero si entre los animales hiponutridos, podríamos inferir que el esquema de separación materna empleado no fue suficiente para generar cambios a nivel del peso entre las ratas del grupo control, pero si entre los animales hiponutridos. Esto se podría deber a un efecto potenciado de la malnutrición proteica temprana con la separación materna.

En coincidencia con resultados previamente obtenidos en nuestro laboratorio, los animales hiponutridos (-NSM y -SM) tratados con salina, no muestran preferencia por sucrosa en la prueba conductual, sugiriendo que las alteraciones neuronales inducidas por la deprivación proteica perinatal *per se* condicionarían la respuesta de las ratas, generando una conducta tipo anhedónica. En relación a la prueba de natación forzada, se observó que los animales H-SM tratados con salina permanecían inmóviles un tiempo significativamente mayor que el resto de los grupos. Esto indicaría que la malnutrición proteica perinatal facilita conductas depresivas en ratas sometidas a separación materna.

De acuerdo con la hipótesis monoaminérgica, diversos síntomas relevantes de la depresión se derivan de una deficiencia de noradrenalina. La noradrenalina está implicada en una serie de procesos fisiológicos extremadamente importantes tales como el aprendizaje y la memoria, el sueño, la excitación y adaptación a los cambios del ambiente (Brunello y col., 2002). Anatómicamente, los somas de las neuronas noradrenérgicas se localizan en el locus coeruleus, y emiten proyecciones hacia otras regiones del cerebro relacionadas con el miedo, como el tálamo, corteza, amígdala, hipocampo e hipotálamo. Estas regiones cerebrales son la clave para entender la base anatómica de enfermedades psiquiátricas como la depresión (Brunello y col., 2002). En el análisis de los datos de ratas tratadas con DMI, un inhibidor de la recaptación de noradrenalina, se observó un aumento en el consumo

de sucrosa en la prueba de preferencia a sucrosa en los animales hiponutridos (-SM y -NSM), en comparación con los grupos tratados con salina. DMI, además de activar la vía noradrenérgica, estimula en menor grado la transmisión serotoninérgica y dopaminérgica en algunos núcleos cerebrales (PGA-IV, 2011). Trabajos a la fecha, coinciden con nuestros resultados indicando una reversión en la conducta anhedónica (Overstreet y col., 2010; Aga-Mizrachi y col., 2014; Liu y col., 2014). Estudios en adicción identifican la vía dopaminérgica mesolímbica (VTA-NAc) como uno de los sustratos anatómicos mas importante en el circuito de recompensa y la anhedonia (síntoma clave en el desorden depresivo mayor). Por lo que, considerando al NAc como un área relevante en la participación de éstas conductas y sus afluencias dopaminérgicas desde VTA (Nestler y Carlezon, 2006), podemos sugerir que el efecto antidepresivo de DMI podría estar mediado en cierto grado por esta actividad dopaminérgica. Estudios previos sugieren que una mayor señalización de BDNF en la vía VTA-NAc tendría un efecto depresivo, mientras que una baja señalización generaría un efecto antidepresivo, y por consiguiente la reversión de la conducta anhedónica (Eisch y col., 2003; Berton y col., 2006; Krishnan y col., 2007; Bessa y col., 2013). De acuerdo con estos resultados, evidencias preliminares de nuestro laboratorio indicaron un aumento de BDNF en NAc de animales H (-NMS y -SM) “anhedónicos”. Si bien DMI revierte la conducta anhedónica, su mecanismo de acción en la vía VTA-NAc, y la participación de BDNF no estarían del todo claros, ya que si incrementara los niveles de BDNF en NAc se esperaría un efecto pro-depresivo y no la reversión de la conducta. A partir de los experimentos realizados en el presente trabajo no podemos inferir la participación de BDNF en la reversión de la conducta anhedónica inducida por el tratamiento repetido con DMI. Para ello, sería necesario realizar pruebas moleculares para dilucidar la participación de DMI en la vía de señalización de BDNF.

Los resultados hallados en la prueba de natación forzada mostraron un marcado descenso en el tiempo de inmovilidad en todos los grupos tratados con DMI en relación a los animales tratados con salina. Si bien esto último denota una reversión en la depresión del humor, es importante destacar que las ratas H-SM mostraron una respuesta atenuada al tratamiento con DMI. Aunque estudios previos coinciden con esta disminución en el tiempo de inmovilidad generada por el

tratamiento con DMI en todos los grupos (Connor y col., 1998; MacQueen y col., 2003; Liu y col., 2014), no se conocen trabajos a la fecha que utilicen un esquema de privación nutricional perinatal en animales sometidos a algún tipo de estrés temprano, y luego tratados con DMI. El tratamiento crónico con DMI produce, además, una disminución de los receptores β -adrenérgicos y una desensibilización de los receptores α -adrenérgicos, aumentando la síntesis y liberación de noradrenalina (Spyraki y Fibiger, 1980; Brunello y col., 2002). Teniendo en cuenta las alteraciones a largo plazo descritas a nivel del sistema monoaminérgico central como consecuencia de la injuria nutricional (Molina y col., 1987; Keller y col., 1982; Laino y col., 1994; Valdomero y col., 2005, 2006, 2007), estos resultados indicarían que la injuria nutricional temprana alteraría la reactividad farmacológica a DMI, poniendo en evidencia una capacidad disminuida para inducir cambios neuroadaptativos en las vías centrales involucradas en el mecanismo de acción de dicha droga.

Por otro lado, se ha descrito que DMI aumenta los niveles de BDNF y del factor CREB fosforilado en hipocampo y amígdala en animales con conductas depresivas (Liu y col., 2014). Trabajos recientes indican que el tratamiento crónico con antidepresivos del tipo de fluxetina e imipramina, no solo revierten la depresión del humor en la PNF sino que inducen un incremento significativo de BDNF en hipocampo (Shieh y col., 2008; Li y col., 2014). Además, se ha visto que la pérdida de BDNF en ratones knockout atenúa el accionar de DMI en la PNF (Monteggia y col., 2007). No obstante, para confirmar la participación de BDNF serían necesarias determinaciones moleculares y/o la administración intra-hipocampo de BDNF. La realización de dichos experimentos está programada para el próximo período.

Como se mencionara anteriormente, a nivel experimental se ha descrito la reversión de conductas depresivas, en particular la depresión del humor evaluada en la PNF, luego de la administración de BDNF (Shirayama y col., 2002). Sin embargo, dicha neurotrofina no tiene una estructura química que permita su uso por administración sistémica, por lo tanto, es imperioso desarrollar compuestos lipofílicos que reproduzcan la actividad de BDNF u otros factores tróficos (Bachis y col., 2002). Visto que estudios previos demostraron que la administración repetida de GM1 induce un incremento significativo de los niveles de BDNF en NAc (Valdomero y col., 2015) e hipocampo (Lim y col., 2011), pensamos que si la facilitación de la conducta

depresiva estaba mediada por una disminución de BDNF en hipocampo, la administración de GM1 podría mejorar la respuesta de animales hiponutridos sometidos a separación materna. Los resultados obtenidos en la prueba de natación forzada de los animales tratados con GM1, mostraron un marcado descenso del tiempo de inmovilidad en las ratas H-SM comparado con los animales del mismo grupo tratados con salina. Estudios recientes coinciden con estos resultados, señalando un efecto antidepresivo de GM1 en otros modelos de depresión, y destacando un aumento en los niveles de BDNF en hipocampo y corteza prefrontal (Jiang y col., 2016). Probablemente, GM1 regulando los niveles de BDNF en dichas estructuras, lograría revertir estas conductas sugiriendo una disminución de la neurotrofina en los animales hiponutridos sometidos a estrés temprano. No obstante, es necesario aumentar el número de animales por grupo y realizar estudios moleculares para confirmar esta alteración y llegar a resultados concluyentes. Es importante señalar que las características estructurales y farmacocinéticas de GM1 permiten su administración sistémica. La investigación de terapias alternativas resultan relevantes y podrían contribuir con nuevas pautas farmacoterapéuticas para el tratamiento de la depresión en sujetos adultos con antecedentes de desnutrición en etapas tempranas.

Finalmente, podemos concluir que el tratamiento repetido con DMI revierte las conductas depresivas facilitadas por la hiponutrición perinatal. No obstante, la respuesta farmacológica a DMI varía de acuerdo a la conducta analizada, ya que encontramos una respuesta atenuada en la PNF. Con los experimentos realizados, y teniendo en cuenta que los niveles de BDNF varía de acuerdo a la estructura y síntoma analizado, no estaríamos en condiciones de afirmar que la reversión de las conductas estarían mediadas por incrementos en los niveles de dicha neurotrofina.

Por otra parte, los resultados obtenidos con el tratamiento repetido con GM1, son muy interesantes en cuanto a la importancia que representaría una terapia alternativa para individuos con antecedentes de desnutrición severa. En base a lo dicho por Valdomero y col. (2015) y Lim y col. (2011) podríamos inferir un incremento de BDNF en hipocampo inducido por GM1.

El estudio del impacto de la malnutrición sobre el desarrollo de conductas depresivas podría representar un significativo aporte a la comprensión de las causas

que favorecen la aparición de desórdenes psiquiátricos, y contribuir a la elucidación de pautas farmacoterapéuticas adecuadas para el tratamiento de la depresión en individuos adultos con antecedentes de desnutrición infantil.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aga-Mizrachi S, Cymerblit-Sabba A, Gurman O, Balan A, Shwam G, Deshe R, Miller L, Gorodetsky N, Heinrich N, Tzezana O, Zubedat S, Grinstein D, Avital A. Methylphenidate and desipramine combined treatment improves PTSD symptomatology in a rat model. *Transl Psychiatry* 4:447-458, 2014.
2. Alonso SJ, Arévalo R, Alfonso D, Rodríguez M. Effects of maternal stress during pregnancy on forced swimming test behavior of the offspring. *Physiol Behav* 50:511-517, 1991.
3. Alonso SJ, Damas C, Navarro E. Behavioral despair in mice after prenatal stress. *Physiol Biochem* 56:77-82, 2000.
4. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-V), Fifth edition, 2015.
5. Angelucci F, Brene S, Mathé AA. BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models. *Mol Psychiatry* 10:345-352, 2005.
6. Arantes Gonçalves F, Coelho R. Depression and treatment: Apoptosis, Neuroplasticity and Antidepressants. *Acta Med Port* 19:9-20, 2006.
7. Autry AE, Monteggia LM. Brain-Derived Neurotrophic Factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rev* 64:238-258, 2012.
8. Bachis A, Rabin SJ, Del Fiacco M, Mocchetti I. Gangliosides prevent excitotoxicity through activation of TrkB receptor. *Neurotox Res* 4:225-234, 2002.
9. Balu DT, Hoshaw BA, Malberg JE, Rosenzweig-Lipson S, Schechter LE, Lucki I. Differential regulation of central BDNF protein levels by antidepressant and non-antidepressant drug treatments. *Brain Res* 1211:31-43, 2008.
10. Barnes RH, Neely CS, Kwong E, Labadan BA, Franková S. Postnatal nutritional deprivations as determinants of adult rat behavior toward food, its consumption and utilization. *J Nutr* 96:467-476, 1968.
11. Bellamy C. Estado mundial de la infancia 2005: La infancia amenazada. *UNICEF* 1-164, 2005.
12. Berton O, McClung CA, Dileone RJ, Krishnan V, Renthal W, Russo SJ, Graham D, Tsankova NM, Bolanos CA, Rios M, Monteggia LM, Self DW, Nestler EJ. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* 311:864-868, 2006.

13. Bessa JM, Morais M, Marques F, Pinto L, Palha JA, Almeida OF, Sousa N. Stress-induced anhedonia is associated with hypertrophy of medium spiny neurons of the nucleus accumbens. *Transl Psychiatry* 3:266-273, 2013.
14. Blier P, Montigny C. Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci* 15:220-226, 1994.
15. Jiang B, Song L, Wang CN, Zhang W, Huang C, Tong LJ. Antidepressant-Like Effects of GM1 Ganglioside Involving the BDNF Signaling Cascade in Mice. *Int J Neuropsychopharmacol* 19:1-13, 2016.
16. Brunello N, Mendlewicz J, Kasper S, Leonard B, Montgomery S, Nelson J, Paykel E, Versiani M, Racagni G. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 12:461-475, 2002.
17. Ceccarelli B, Aporti F, Finesso M. Effects of brain gangliosides on functional recovery in experimental regeneration and reinnervation. *Adv Exp Med Biol* 71:275-293, 1976.
18. Connor TJ, Kelly JP, Leonard BE. Forced swim test-Induced endocrine and immune changes in the rat: Effect of subacute desipramine treatment. *Pharmacol Biochem Behav* 59:171-177, 1998.
19. Derks NA, Krugers HJ, Hoogenraad CC, Joëls M, Sarabdjitsingh RA. Effects of Early Life Stress on Synaptic Plasticity in the Developing Hippocampus of Male and Female Rats. *PLOS One* 11:0164551, 2016.
20. Dobbing J. Vulnerable periods of brain development. En: Lipids, malnutrition and the developing brain. *CIBA Found Symp* 9-29, 1972.
21. Dobbing J. Nutrition and the developing brain. *Lancet* 1:48-793, 1973.
22. Duchemin AM, Ren Q, Mo L, Neff NH, Hadjiconstantinou M. GM1 ganglioside induces phosphorylation and activation of Trk and Erk in brain. *J Neurochem* 81:696-707, 2002.
23. Eisch AJ, Bolaños CA, de Wit J, Simonak RD, Pudiak CM, Barrot M, Verhaagen J, Nestler EJ. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression. *Biol Psychiatry* 54:994-1005, 2003.
24. Frye CA, Wawrzycki J. Effect of prenatal stress and gonadal hormone condition on depressive behaviors of female and male rats. *Horm Behav* 44:319-326, 2003.

25. Gillman PK. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *Br J Pharmacol* 151:737-748, 2007.
26. Hashimoto K, Koizumi H, Nakazato M, Shimizu E, Iyo M. Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor in eating disorders: recent findings and its pathophysiological implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29:499-504, 2005.
27. Keller EA, Munaro NI, Orsingher OA. Perinatal undernutrition reduces alpha and beta adrenergic receptor binding in adult rat brain. *Science* 215:1269-70, 1982.
28. Krishnan V, Han MH, Graham DL, Berton O, Renthal W, Russo SJ, Laplant Q, Graham A, Lutter M, Lagace DC, et al. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell* 131:391-404, 2007.
29. Laino CH, Keller EA, Orsingher OA. Reduced cyclic AMP response to adrenergic stimulation in brain slices from perinatally undernourished rats. *J Nutr Biochem* 5:338-341, 1994.
30. Lee JH, Kim HJ, Kim JG, Ryu V, Kim BT, Kang DW, Jahng JW. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. *Neurosci Res* 58:32-39, 2007.
31. Li M, Fu Q, Li Y, Li S, Xue J, Ma S. Emodin opposes chronic unpredictable mild stress induced depressive-like behavior in mice by upregulating the levels of hippocampal glucocorticoid receptor and brain-derived neurotrophic factor. *Fitoterapia* 98:1-10, 2014.
32. Lim ST, Esfahani K, Avdoshina V, Mocchetti I. Exogenous gangliosides increase the release of Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Neuropharmacol* 60:1160-1167, 2011.
33. Liu D, Xie K, Yang X, Gu J, Ge L, Wang X, Wang Z. Resveratrol reverses the effects of chronic unpredictable mild stress on behavior, serum corticosterone levels and BDNF expression in rats. *Behav Brain Res* 264:9-16, 2014.
34. Llorente R, Arranz L, Marco EM, Moreno E, Puerto M, Guaza C, De la Fuente M, Viveros MP. Early maternal deprivation and neonatal single administration with a cannabinoid agonist induce long-term sex-dependent psychoimmunoendocrine effects in adolescent rats. *Psychoneuroendocrinology* 32:636-650, 2007.

35. MacQueen GM, Ramakrishnan K, Ratnasingan R, Chen B, Young LT. Desipramine treatment reduces the long-term behavioural and neurochemical sequelae of early-life maternal separation. *Int J Neuropsychopharmacol* 6:391-396, 2003.
36. Marais L, van Rensburg SJ, van Zyl JM, Stein DJ, Daniels WM. Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. *Neurosci Res* 61:106-112, 2008.
37. Marichich ES, Molina VA, Orsingher OA. Persistent changes in central catecholaminergic system after recovery of perinatally undernourished rats. *J Nutr* 109:1045-1050, 1979.
38. Matthews K, Lawrence W, Robbins TW. Repeated maternal separation of preweanling rats attenuates behavioral responses to primary and conditioned incentives in adulthood. *Physiol Behav* 59:99-107, 1995.
39. Matthews K, Robbins TW. Early experience as a determinant of adult behavioural responses to reward : the effects of repeated maternal separation in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 27:45-55, 2003.
40. Mendoza Bermudez C. Aplicación clínica de marcadores periféricos de respuesta a la terapia antidepresiva: neurotrofinas y citocinas. *Rev Colomb Psiquiat* 41:165-184, 2012.
41. Mirescu C, Peters JD, Gould E. Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nat Neurosci* 7:841-6, 2004.
42. Mocchetti I. Exogenous gangliosides, neuronal plasticity and repair, and the neurotrophins. *Cell Mol Life Sci* 62:2283-2294, 2005.
43. Mokler DJ, Torres OI, Galler JR, Morgane PJ. Stress-induced changes in extracellular dopamine and serotonin in the medial prefrontal cortex and dorsal hippocampus of prenatally malnourished rats. *Brain Res* 1148: 226-233, 2007.
44. Molina VA, Keller EA, Orsingher OA. Reduced anti-immobility effect of repeated desipramine (DMI) treatment in adult rats undernourished at perinatal age. *Pharmacol Biochem Behav* 26:417-419, 1987.

45. Monteggia LM, Luikart B, Barrot M, Theobald D, Malkovska I, Nef S, Parada LF, Nestler EJ. Brain-derived neurotrophic factor conditional knockouts show gender differences in depression-related behaviors. *Biol Psychiatry* 61:187-197, 2007.
46. Morgane JP, Austin LR, Diaz CS, Kemper T, Galler J. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev* 17: 91-128, 1993.
47. Morgane PJ, Mokler DJ, Galler JR. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neurosci Biobehav Rev* 26:471-484, 2002.
48. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone R, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron* 34:13-25, 2002.
49. Nestler EJ, Carlezon WA. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol Psychiatry* 59:1151-1159, 2006.
50. Neugebauer R, Hoek HW, Susser E. Prenatal exposure to wartime famine and development of antisocial personality disorder in early adulthood. *JAMA* 282:455-462, 1999.
51. Obuchowicz E, Prymus A, Bielecka AM, Drzyzga L, Paul-Samojedny M, Kot M, Wladyslawa AD. Desipramine administered chronically inhibits lipopolysaccharide- stimulated production of IL-1b in the brain and plasma of rats. *Cytokine* 80:26-34, 2016.
52. Overstreet DH, Naimoli VM, Griebel G. Saredutant, an NK2 receptor antagonist, has both antidepressant-like effects and synergizes with desipramine in an animal model of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 96: 206–210, 2010.
53. Peñasco S, Mela V, López-Moreno JA, Viveros MP, Marco EM. Early maternal deprivation enhances voluntary alcohol intake induced by exposure to stressful events later in life. *Neural Plast* 2015:342761, 2015.
54. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioral despair test in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 47:379, 1978.
55. Rabin SJ, Bachis A, Mocchetti I. Gangliosides activate Trk receptors by inducing the release of neurotrophins. *J Biol Chem* 277:49466 - 49472, 2002.
56. Réus Gz, Stringari RB, Ribeiro KF, Cipriano AL, Panizzutti BS, Stertz L, Lersch C, Kapczinski F, Quevedo J. Maternal deprivation induces depressive-like behaviour and alters neurotrophin levels in the rat brain. *Neurochem Res* 36:460-466, 2011.

57. Shieh CH, Hong CJ, Huang YH, Tsai SJ. Potential antidepressant properties of cysteamine on hippocampal BDNF levels and behavioral despair in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32:1590-1594, 2008.
58. Shirayama Y, Chen A, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-Derived Neurotrophic Factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci* 22:3251-3261, 2002.
59. Siuciak JA, Lewis DR, Wiegand SJ, Lindsay RM. Antidepressant-like effect of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). *Pharmacol Biochem Behav* 56:131-137, 1997.
60. Spyraiki C, Fibiger HC. Functional evidence for subsensitivity of noradrenergic alpha 2 receptors after chronic desipramine treatment. *Life Sci* 27:1863–1867, 1980.
61. Stahl SM, University of California. The Prescriber's Guide Antidepressants (PGA-IV), Fourth edition, 2011.
62. Susser E, Hoek HW, Brown A. Neurodevelopmental disorders after prenatal famine: The story of the Dutch famine study. *Am J Epidemiol* 147:213-216, 1998.
63. Vaidya VA, Duman RS. Depression-emerging insights from neurobiology. *British medical Bull* 57: 61-79, 2001.
64. Valdomero A, Isoardi NA, Orsingher OA, Cuadra GR. Pharmacological reactivity to cocaine in adult rats undernourished at perinatal age: behavioral and neurochemical correlates. *Neuropharmacology* 48:538-546, 2005.
65. Valdomero A, Bussolino DF, Orsingher OA, Cuadra GR. Perinatal protein malnutrition enhances rewarding cocaine properties in adult rats. *Neuroscience* 137:221-229, 2006.
66. Valdomero A, Velazquez EE, de Olmos S, de Olmos JS, Orsingher OA, Cuadra GR. Increased rewarding properties of morphine in perinatally protein-malnourished rats. *Neuroscience* 150:449-458, 2007.
67. Valdomero A, Perondi MC, Orsingher OA, Cuadra GR. Exogenous GM1 ganglioside increases accumbal BDNF levels in rats. *Behav Brain Res* 278:303-306, 2015.
68. Viveros MP, Llorente R, López-Gallardo M, Suarez J, Bermúdez-Silva F, De la Fuente M, Rodríguez de Fonseca F, Garcia-Segura LM. Sex-dependent

- alterations in response to maternal deprivation in rats. *Psychoneuroendocrinology* 34:217-226, 2009.
69. Yu H, Chen Z. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. *Acta Pharmacologica Sinica* 32:3-11, 2011.
70. Zhang L, Levine S, Dent G, Zhan Y, Xing G, Okimoto D, Gordon MK, Post RM, Smith MA. Maternal deprivation increases cell death in the infant rat brain. *Dev Brain Res* 133:1-11, 2002.
71. Zurita A, Murúa S, Molina V. An endogenous opiate mechanism seems to be involved in stress-induced anhedonia. *Eur J Pharmacol* 299:1-7, 1996.