



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MÉXICO

01985  
Universidad Nacional Autónoma de México 13

Programa de Maestría y Doctorado en Psicología  
Área Neurociencias de la Conducta

Acciones antidepressivas del neuroesteroide alopregnanolona en la prueba de nado forzado y la actividad neuronal del núcleo septal lateral de la rata: efectos mediados por el receptor GABA<sub>A</sub>

TESIS

Que para obtener el Grado de

Doctor en Psicología

Presenta:

M. en C. Juan Francisco Rodríguez Landa

Director de Tesis: Dr. Carlos M. Contreras

Comité Tutoral: Dra. María Corsi Cabrera

Dr. Miguel Pérez de la Mora

Dr. Roberto A. Prado Alcalá

Dr. Victor M. Alcaraz Romero

Dr. Alonso Fernández Guasti

Dr. Javier Nieto Gutiérrez

México, D. F.

Enero, 2003

A



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**PAGINACION**

**DISCONTINUA**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Juan Francisco

Rodríguez Landa

FECHA: 19 - Noviembre - 2003

FIRMA: [Firma]

El presente trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Carlos M. Contreras en el Laboratorio de Neurofarmacología de la Unidad Periférica-Xalapa del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México y del Instituto de Neurootología de la Universidad Veracruzana, en la Ciudad de Xalapa, Veracruz, México.

Durante el desarrollo de la presente Tesis Juan Francisco Rodríguez Landa recibió una beca (Reg. 124885) para estudios de Postgrado otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Adicionalmente, recibió un apoyo parcial por parte de la Dirección General de Estudios de Postgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-UNAM).

B

## ***JURADO EVALUADOR***

**Dr. Carlos M. Contreras**  
(TUTOR)

Instituto de Investigaciones Biomédicas,  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Neurociología, Universidad Veracruzana  
Xalapa, Veracruz, México.

**Dra. María Corsi Cabrera**  
(TUTOR INTERNO)

Facultad de Psicología  
Universidad Nacional Autónoma de México  
México, D.F.

**Dr. Miguel Pérez de la Mora**  
(TUTOR EXTERNO)

Instituto de Fisiología, Biofísica y Neurociencias  
Universidad Nacional Autónoma de México  
México D.F.

**Dr. Roberto A. Prado Alcalá**  
(TUTOR EVALUADOR)

Instituto de Neurobiología, Campus UNAM-UAQ  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Juriquilla, Querétaro, México.

**Dr. Victor M. Alcaraz Romero**  
(TUTOR EVALUADOR)

Instituto de Neurociencias  
Universidad de Guadalajara  
Guadalajara, Jalisco, México.

**Dr. Alonso Fernández Guasti**  
(TUTOR EVALUADOR)

Departamento de Farmacobiología,  
Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional  
México, D.F.

**Dr. Javier Nieto Gutiérrez**  
(TUTOR EVALUADOR)

Facultad de Psicología  
Universidad Nacional Autónoma de México  
México, D.F.



## *AGRADECIMIENTOS*

Al Dr. Carlos M. Contreras, por ser un excelente maestro y amigo, por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación y por ser pilar fundamenta en mi formación académica y profesional.

A la Dra. María Corsi Cabrera, Dr. Miguel Pérez de la Mora, Dr. Roberto A. Prado Alcalá, Dr. Victor M. Alearaz Romero, Dr. Alonso Fernández Guastí y Dr. Javier Nieto Gutiérrez, por formar parte de mi comité tutorial, por sus comentarios siempre acertados durante el desarrollo del presente trabajo y por contribuir sustancialmente en mi formación profesional.

A mis amigos y compañeros del Laboratorio de Neurofarmacología, a los que aún están aquí (Margarita, Dina, Ana, Mine, Alejandro, Sergio y Rafa) y los que partieron en busca de sus ideales (Lucy, Erika, Lety, Maribel y José Luis), por brindarme su amistad y ayuda incondicional en el desarrollo del presente trabajo, los considero parte de mi familia.

A la familia Chávez-Martínez por su amable hospitalidad e invaluable apoyo durante mi estancia en la Ciudad de México.

D

## *DEDICATORIAS*

A Dios, por ser la luz que ilumina mi camino...

A mi Mamá, por todo el cariño y apoyo que me ha dado y por demostrarme en cada momento que a pesar de las adversidades de la vida, todo se puede lograr.

A mi Papá, por el apoyo que siempre me ha dado y por confiar en mí.

A mis Hermanas, por ese cariño tan especial que me dan y por su apoyo incondicional. Una dedicatoria especial a mi hermana Ludy por mostrarnos a todos su fortaleza y lucha contra las adversidades de la vida.

A mis Hermanos, por el apoyo que me han brindado sin esperar nada a cambio.

A mi familia en general, por el cariño y el apoyo que he recibido de ustedes.



INDICE	Pag.
<b>RESUMEN</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>ANTECEDENTES</b>	
Hipótesis biológica de la depresión.....	4
Modelos animales para el estudio experimental de la depresión.....	6
Biosíntesis de neuroesteroides.....	7
Implicación de los neuroesteroides en la motivación y la emoción.....	10
Implicación de las hormonas gonadales y los neuroesteroides en los trastornos del estado de ánimo.....	14
Acciones de las hormonas gonadales y los neuroesteroides sobre el sistema nervioso central.....	15
Núcleo septal lateral.....	18
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	22
<b>HIPÓTESIS</b> .....	23
<b>OBJETIVO</b>	
General.....	24
Particulares.....	24
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	
Sujetos experimentales.....	25
Manipulación quirúrgica.....	25
Ovariectomía.....	25
Pruebas conductuales.....	25
Campo abierto.....	25
Nado forzado.....	26
Estudio electrofisiológico.....	26
Cirugía estereotáxica.....	26
Registro unitario extraeclular.....	27

F



## SERIES EXPERIMENTALES

<b>EXPERIMENTO I. Curva dosis-respuesta de la aplicación sistémica de alopregnanolona en la prueba de nado forzado: acciones antidepresivas</b> .....	29
Grupos experimentales .....	29
Análisis estadístico .....	29
Diagrama de trabajo .....	30
Resultados .....	31
Discusión .....	36
<b>EXPERIMENTO II. Efecto antidepresivo a lo largo del tiempo producido por alopregnanolona en la prueba de nado forzado: comparación con la progesterona</b> .....	42
Grupos experimentales .....	42
Análisis estadístico .....	42
Diagrama de trabajo .....	43
Resultados .....	44
Discusión .....	48
<b>EXPERIMENTO III. Participación del receptor GABA<sub>A</sub> en la acción antidepresiva de alopregnanolona en la prueba de nado forzado</b> .....	53
Grupos experimentales .....	53
Análisis estadístico .....	53
Diagrama de trabajo .....	54
Resultados .....	55
Discusión .....	58
<b>EXPERIMENTO IV. Efecto de alopregnanolona sobre la actividad neuronal del núcleo septal lateral de la rata: Efectos mediados por el receptor GABA<sub>A</sub></b> .....	61
Grupos experimentales .....	61
Análisis estadístico .....	61
Diagrama de trabajo .....	62
Resultados .....	63
Discusión .....	67
<b>CONCLUSION GENERAL</b> .....	73
<b>MODELO TEÓRICO</b> .....	74

#### APÉNDICE I

- Contreras CM, Saavedra M, Rodríguez-Landa JF, Bernal-Morales B, Gutiérrez-García AG. Neuroquímica de la emoción y la motivación. En: Hernández-González M (Ed). Motivación Animal y Humana. México: El Manual Moderno; México, D.F. 2002;39-64. (ISSBN: 970-270-148-1). ..... 75

#### APÉNDICE II

- Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG, Contreras CM. Implicación del núcleo accumbens y del sistema dopaminérgico en las acciones neurofarmacológicas de las terapias antidepresivas. *Psicología y Salud* 2001, 11(1):175-186. .... 76

#### APÉNDICE III

- Contreras CM, Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG. Estrés psicosocial: repercusiones neuronales e implicaciones farmacológicas. En: Manzo J, (Ed). Neuroetología: La década del cerebro y la conducta animal. Universidad Veracruzana: Xalapa, Veracruz. 2002;267-282. (ISBN: 968-834-588-1) ..... 77

#### APÉNDICE IV

- Rodríguez-Landa JF, Contreras CM. Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Archivos de Neurociencias (Mex)* 2000, 5(2):74-83. .... 78

#### APÉNDICE V

- Contreras CM, Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG, Bernal-Morales B. The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *Journal of Psychopharmacology* 2001, 15(4):231-236. .... 79

#### APÉNDICE VI

- Rodríguez-Landa JF, Contreras CM, Gutiérrez-García AG, Bernal-Morales B. Chronic, but not acute, clomipramine or fluoxetine treatment reduces firing rate of mesoaccumbens neurons of the rat. *Neuropsychobiology* 2003, 48(3): 116-123. .... 80

- REFERENCIAS ..... 81

AT

## RESUMEN

Durante el síndrome premenstrual, la depresión postparto y la menopausia, las bajas concentraciones de hormonas gonadales pueden inducir alteraciones del estado de ánimo como la ansiedad y la depresión; en tanto que el recambio hormonal ejerce acciones ansiolíticas y antidepressivas. En modelos animales para el estudio experimental de la ansiedad y la depresión, la progesterona y su metabolito alopregnanolona a través de acciones sobre el sistema GABAérgico, reducen los parámetros sugerentes de ansiedad y desesperanza. No obstante, los estudios enfocados a explorar la acción de la alopregnanolona en modelos animales de depresión y asociarlos con cambios en la actividad neuronal de estructuras cerebrales involucradas en la fisiopatología de la depresión como el núcleo septal lateral, requieren ser ampliados. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue realizar una serie de experimentos en ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar, para evaluar el efecto de la alopregnanolona en la prueba de nado forzado, un modelo animal ampliamente utilizado para evaluar la potencia de sustancias con propiedades antidepressivas, y subsecuentemente definir las acciones de este neuroesteroides sobre la actividad espontánea de las neuronas del núcleo septal lateral, mediante el registro unitario extracelular, y, finalmente explorar la participación del receptor GABA<sub>A</sub> en estas acciones. **Experimento I.** Se realizó una curva dosis-respuesta para evaluar la acción de la alopregnanolona (0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 mg/kg, i.p.) sobre el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado. La alopregnanolona redujo de manera dosis-dependiente el tiempo total de inmovilidad e incremento la latencia al primer periodo de inmovilidad, sin provocar cambios en la actividad motora del animal en la prueba de campo abierto. Este hallazgo es interpretado como un efecto antidepressivo. La dosis mínima efectiva para producir la acción antidepressiva en el nado forzado fue la de 1.0 mg/kg. **Experimento II.** Evaluamos la acción antidepressiva de la alopregnanolona (reducción del tiempo total de inmovilidad) a lo largo del tiempo en la prueba de nado forzado y la comparamos con la ejercida por su precursor, la progesterona. Observamos una reducción de la inmovilidad en la prueba de nado forzado producida por la alopregnanolona 0.5 h después de la administración, la cual se mantiene por un periodo de 1.5 h, en tanto que la acción de la progesterona fue detectada después de 1.0 h, pero su efecto se mantuvo durante 5.0 h. **Experimento III.** Exploramos la participación del receptor GABA<sub>A</sub> en la acción antidepressiva producida por la alopregnanolona (1.0 mg/kg) y encontramos que la administración de esta dosis redujo el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado; este efecto, sin embargo, fue bloqueado por la administración previa de 1.0 mg/kg de picrotoxina, un antagonista del receptor GABA<sub>A</sub>, lo cual sugiere que esta acción es mediada por este receptor. **Experimento IV.** Exploramos el efecto de 1.0 mg/kg de alopregnanolona sobre la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral y la implicación del receptor GABA<sub>A</sub>. La dosis de alopregnanolona, que ejerció la acción antidepressiva en la prueba de nado forzado, incremento significativamente la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral de manera similar a la observada después de la administración sistémica de antidepressivos clínicamente eficaces; mientras que la administración previa de picrotoxina (1.0 mg/kg) bloqueó el incremento de la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral producida por la alopregnanolona, sugiriendo la participación del receptor GABA<sub>A</sub> en la acción de este neuroesteroides sobre la actividad neuronal del septum lateral. **Conclusión.** El perfil farmacológico de la alopregnanolona es semejante al producido por los fármacos antidepressivos clínicamente eficaces, tanto en la prueba de nado forzado (reducción de la inmovilidad, sin cambios en la actividad motora en la prueba de campo abierto) como en la actividad neuronal del núcleo septal lateral (incremento de la tasa de disparo), con la participación del receptor GABA<sub>A</sub>.

## ABSTRACT

During premenstrual syndrome, postpartum, and menopause, lowered amounts of gonadal hormones may induce altered states of mood, i.e., anxiety and depression, for which hormonal therapy produces anxiolytic and antidepressant effects. In animal models for studying anxiety and depression, progesterone and its metabolic allopregnanolone, through their actions on GABAergic system, reduce anxiety and despair signs. Nevertheless, studies exploring antidepressant actions of allopregnanolone in animal models of depression associating feasible neuronal activity changes in cerebral structures involved in the physiopathology of depression, such as the lateral septal nucleus, need to be broadened. Therefore, the aim of present study was to conduct a series of experiments on ovariectomized Wistar rats, to evaluate the effect of allopregnanolone in the forced swimming test, an animal model of depression widely used to test the potency of antidepressant drugs, and subsequently to define the actions of this neurosteroid on the spontaneous activity of the lateral septal nucleus neurons, and lastly to explore the involvement of the GABA<sub>A</sub> receptor in both actions. **Experiment I.** A dose-response curve was constructed for allopregnanolone (0.5, 1.0, 2.0 and 3.0 mg/kg, i.p.) action on immobility in the forced swimming test. We found that allopregnanolone in a dose-depend fashion reduced the total time of immobility and increased the latency to the first period of immobility without causing changes in the locomotor activity in the open field test. This finding is interpreted as an antidepressant-like effect. The minimum effective dose for producing antidepressant-like effects in the forced swimming test was 1.0 mg/kg. **Experiment II.** We evaluated the antidepressant-like effect of allopregnanolone (reduction of immobility) throughout of time in the forced swimming test and compared it with the action exerted by its precursor progesterone. We observed a reduction of immobility produced by allopregnanolone in the forced swimming test 0.5 h after administration which endured during 1.5 h; whereas the actions of progesterone were detected some time later (1.0 h) but their effects lasted for 5.0 h. **Experiment III.** We explored the participation of the GABA<sub>A</sub> receptor in the antidepressant-like actions produced by allopregnanolone (1.0 mg/kg) and found that the administration of this dose reduced the total time of immobility in the forced swimming test; this effect, however, was blocked by a previous injection of 1.0 mg/kg of picrotoxicine, a GABA<sub>A</sub> receptor antagonist, which suggest that this action is mediated by this receptor. **Experiment IV.** We explored the effect of 1.0 mg/kg of allopregnanolone on the spontaneous firing rate of lateral septal neurons and the involvement of the GABA<sub>A</sub> receptor. The dose of allopregnanolone exerting antidepressant-like actions in the forced swimming test, significantly increased the firing rate of lateral septal neurons in a manner similar to that observed after clinically effective antidepressant systemic injection; whereas the previous administration of picrotoxicine (1.0 mg/kg, i.p.) blocked the increased neuronal firing rate produced by allopregnanolone indicating the participation of GABA<sub>A</sub> receptor in the actions of this neurosteroid on the neuronal activity of lateral septal nucleus. **Conclusion.** The pharmacological profile of allopregnanolone resembles that produced for clinically effective antidepressant drugs, both in the forced swimming test (reduction of immobility without modifying motor activity in the open field test) and on the spontaneous firing rate of lateral septal nucleus (increased firing rate), which the participation of the GABA<sub>A</sub> receptor.

## INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno afectivo que resulta de diversas alteraciones en el funcionamiento de algunos de los sistemas de neurotransmisión o neuroendocrinos y es clasificada en el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-IV), dentro de los trastornos del estado de ánimo (American Psychiatric Association, 1994). En la población general, la depresión se presenta con un marcado dimorfismo sexual y se observa del 10 al 25 % en el género femenino y entre el 5 y 12 % en el masculino (Breslau et al., 1995). La depresión tiene a la anhedonia o incapacidad para experimentar placer, como síntoma central, pero también se caracteriza por otros cambios del estado de ánimo en los que concurren episodios de irritabilidad, ansiedad y miedo. También se observan otras alteraciones diversas del apetito, del peso corporal, del sueño, de la eficiencia psicomotora; todo ello acompañado de la disminución de la autoestima, sentimientos de culpa e ideas de muerte que conllevan el riesgo de suicidio (American Psychiatric Association, 1994).

A pesar de los abundantes estudios realizados, tanto en el ser humano como en animales de experimentación, sólo se ha logrado una comprensión parcial de la base anatomofuncional y neurobiológica de la depresión. A pesar de ello, se han obtenido grandes avances en el desarrollo de tratamientos antidepresivos eficaces clínicamente; para los cuales se han identificado una gran parte de sus acciones sobre diversos sistemas neuroanatómicos, bioquímicos, neuroendocrinos y fisiológicos (Schildkraut, 1965; Willner, 1997; Rodríguez-Landa y Contreras, 1998a, 1998b, 2000). Con estos hallazgos se han planteado varias hipótesis acerca de la fisiopatología de la depresión y de las acciones de las terapias antidepresivas.

Clásicamente, la hipótesis biológica de la depresión postula que las alteraciones de este trastorno se deben a la disfunción de los sistemas de neurotransmisión serotoninérgico y noradrenérgico, a esta hipótesis se le denominó "hipótesis monoaminérgica de la depresión" (Schildkraut, 1965); no obstante, en la actualidad también se ha involucrado a la dopamina (Briley y Moret, 1993). Otros estudios más recientes señalan que en el trastorno depresivo participan múltiples sistemas de neurotransmisión y neuroendocrinos (Véase apéndice I), en el que las fluctuaciones de las concentraciones de las hormonas gonadales como el estradiol, la progesterona y sus metabolitos  $\alpha$ -reducidos como la alopregnanolona, podrían participar también de manera importante en la aparición de algunas alteraciones del estado de ánimo presentes en la ansiedad y la depresión (Van Broekhoven y Verkes, 2003); los cuales se relacionan con el descenso de los niveles hormonales en mujeres con

síndrome premenstrual (Sherwin et al., 1985), con depresión postparto (Nappi et al., 2001) o climáticas (Halbreich, 1986).

Al respecto, el estradiol, la progesterona y su metabolito, la alopregnanolona, ejercen acciones contundentes sobre el funcionamiento del sistema nervioso central (McEwen y Parsons, 1992; Genizzani et al., 1992; Kubli, 1993; Gutiérrez-García y Contreras, 2000), modificando particularmente algunos sistemas de neurotransmisión como el serotoninérgico (Maswood et al., 1995; Farmer et al., 1996), el dopaminérgico (Becker y Beer, 1986) y el GABAérgico (Maggi y Pérez, 1984; Pérez et al., 1986); es decir, sistemas involucrados en la fisiopatología de la depresión y en las acciones neurofarmacológicas de las terapias utilizadas en su control (Canizzaro et al., 1993; Owens y Nemeroff, 1994; Petty, 1995; Bonhomme y Esposito, 1998). Al parecer estas acciones se establecen en diversas estructuras cerebrales que forman parte de sistema límbico como el núcleo septal lateral, el hipocampo y el hipotálamo (Rainbow et al., 1982; Contreras et al., 1990a,1990b; Canonaco et al., 1993a, 1993b), además de componentes del sistema mesolímbico como el núcleo accumbens y el área tegmental ventral (Willner et al., 1991; Kapur y Mann, 1992; Fibiger, 1995; Esposito, 1996; Willner, 1997; Rodríguez-Landa, 2000; Rodríguez-Landa et al., 2001), los cuales también poseen receptores a hormonas gonadales (Jakab et al., 1994). Así, las concentraciones hormonales pueden potenciar el o los efectos ejercidos por los fármacos ansiolíticos y antidepresivos (Wit y Rukstalis, 1997). Al parecer este efecto se debe en parte a la regulación de los receptores neuronales en los que algunos antidepresivos y/o ansiolíticos ejercen sus acciones (Schneider et al., 1997; Stahl, 1998). En este sentido, la progesterona y la alopregnanolona, potencian las propiedades anticonvulsivantes, sedantes y ansiolíticas de algunos fármacos; por ejemplo, el efecto sedante de las benzodiazepinas (triazolam) se acentúa cuando previamente se ha administrado progesterona por vía oral a mujeres postmenopáusicas (Kroboth y McAuley, 1997)

Aunado a los datos derivados de estudios en el ser humano, diversos experimentos en animales de laboratorio muestran la existencia de diferencias ligadas al sexo en la evaluación de la ansiedad y la depresión experimental utilizando pruebas conductuales como el laberinto de brazos elevados y la prueba de nado forzado, respectivamente (Alonso et al., 1991; Wilson y Biscardi, 1994; Contreras et al., 1995), así como en la respuesta a los tratamientos antidepresivos; las hembras son las que mejor responden al tratamiento farmacológico con antidepresivos, en comparación con los machos (Contreras et al., 1995) Al parecer esta mejor respuesta se relaciona con los niveles elevados de estradiol y de progesterona en las fases de proestro-estro del ciclo estral de la rata (Contreras, et al. 1995). De igual manera, la respuesta farmacológica de los ansiolíticos (Bitran et al., 1991b; Fernández-Guasti y Picazo,

1990; Carey et al., 1992; Fernández-Guasti et al., 1999) y los antidepresivos (Contreras et al., 1998) es potenciada durante la fase de proestro-estro de la rata, es decir, cuando los niveles de progesterona y otras hormonas se encuentran incrementadas (Feder, 1981; Freeman, 1988). Mas aún, la aplicación sistémica o *in situ* de progesterona en el núcleo septal lateral disminuye la inmovilidad de los animales sometidos a la prueba de nado forzado (Martínez-Mota et al., 1999; Estrada-Camarena et al., 2002), un efecto semejante al ejercido por diversos antidepresivos eficaces clínicamente (Rodríguez-Landa y Contreras, 2000); de igual manera la progesterona disminuye los parámetros sugerentes de ansiedad en pruebas conductuales como el laberinto de brazos elevados y la prueba de enterramiento defensivo (Picazo y Fernández-Guasti, 1995; Martínez-Mota et al., 2000). Recientemente, Khisti y colaboradores (2000) reportaron por primera vez que la administración intraperitoneal o intracerebroventricular de alopregnanolona produce acciones tipo antidepresivo en la prueba de nado forzado en el ratón y que dicho efecto es mediado en parte por el receptor GABA<sub>A</sub>.

Los datos antes señalados muestran que las hormonas gonadales ejercen acciones semejantes a los ansiolíticos y/o antidepresivos en animales de experimentación (Bitran et al., 1991b; Fernández-Guasti y Picazo, 1990; Carey et al., 1992; Contreras et al., 1998; Fernández-Guasti et al., 1999). Cabe señalar que la acción ansiolítica y antidepresiva que ejerce la progesterona se ha identificado mediante diversos modelos conductuales, uno de ellos es la prueba de nado forzado (antidepresivos) y la de enterramiento defensivo (ansiolíticos); sin embargo, ha sido poco estudiado el efecto de los metabolitos de la progesterona, como la alopregnanolona (Khisti et al., 2000; Khisti y Chopde, 2000) en la prueba de nado forzado y se carece de estudios que exploren la acción de la alopregnanolona sobre la actividad neuronal de estructuras cerebrales implicadas en la fisiopatología de la depresión y en las acciones de los antidepresivos como el núcleo septal lateral (Contreras et al., 1989, 1990a, 1995, 2000, 2001). Por lo anterior, en el presente trabajo de tesis se evaluó el efecto de la administración sistémica del neuroesteroide alopregnanolona en la prueba de nado forzado y su relación con la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral de ratas hembra adultas ovariectomizadas de la cepa Wistar. Asimismo, se exploró la participación del receptor GABA<sub>A</sub> en las acciones conductuales y electrofisiológicas ejercidas por dicho neuroesteroide.

## ANTECEDENTES

### Hipótesis biológica de la depresión

Desde mediados de la década de 1960 la hipótesis biológica de la depresión postuló que las alteraciones en este trastorno se deben a la disfunción de los niveles disponibles de serotonina (5-HT) y noradrenalina, a la cual se le denominó "hipótesis monoaminérgica de la depresión" (Schildkraut, 1965; Briley y Moret, 1993). Esta hipótesis estuvo apoyada en las observaciones de que los inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (MAOs) son buenos antidepresivos y que sus acciones se establecen al incrementar la disponibilidad de 5-HT y noradrenalina en la hendidura sináptica. También se apoyó, por otro lado, en la observación clínica de que la reserpina depleta a la 5-HT y a la noradrenalina, y con frecuencia produce cuadros depresivos al reducir las concentraciones cerebrales de esos neurotransmisores (Gerber y Nies, 1991). Lo cual es consistente con las observaciones de que en líquido cefalorraquídeo de algunos pacientes deprimidos hay disminución de 5-HT y de su metabolito el ácido 5-hidroxi-indolacético (Schildkraut, 1965). Además, los fármacos que inhiben selectivamente la recaptura de 5-HT como la fluoxetina, la paroxetina y la fluvoxamina, así como los agonistas específicos al receptor 5-HT<sub>1A</sub> como la buspirona, la gepirona y la ipsapirona, y los antidepresivos tricíclicos que inhiben la recaptura de 5-HT y/o de noradrenalina como la clorimipramina y la desmetilimipramina, son clínicamente eficaces en el tratamiento de la depresión (Arango et al., 1990; Owens y Nemeroff, 1994; Rosenstein, 1994); al parecer facilitando la disponibilidad de los neurotransmisores en la sinapsis. De igual forma, los inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (MAOs), al incrementar la disponibilidad de algunos neurotransmisores en la hendidura sináptica poseen acciones antidepresivas (Baldessarini, 1991).

Otras evidencias sustanciales implican a la dopamina en la fisiopatología de la depresión (Randrup et al., 1975; Kapur y Mann, 1992; Cabib y Puglisi, 1996; Hamner y Diamond, 1996) y en las acciones terapéuticas de los fármacos antidepresivos (Gambarana et al., 1995; Willner, 1997; Bonhomme y Esposito, 1998; Rodríguez-Landa y Contreras, 2001). Estas aseveraciones han derivado de estudios en pacientes deprimidos en los que la concentración de los metabolitos de dopamina, el ácido homovanílico y el ácido dihidroxifenilacético, se encuentra disminuida en el líquido cefalorraquídeo (Mendels et al., 1972; Ridges, 1975; Roy et al., 1985; Bowden et al., 1997); mientras que la administración de agonistas e inhibidores de la recaptura de dopamina ejerce algunas acciones antidepresivas (Jimerson, 1987; Kapur y Mann, 1992). Así, se propone que la disfunción del sistema dopaminérgico, en particular del mesolímbico, esta involucrada en la falta de motivación que presenta el paciente deprimido; lo cual, al ser restaurado por el tratamiento antidepresivo reduce algunas de las alteraciones emocionales y conductuales que caracterizan al trastorno depresivo (Véase **apéndice II**).



En animales de experimentación se han encontrado otras evidencias que apoyan la idea de que en la depresión y en las acciones de los antidepresivos participan múltiples sistemas de neurotransmisión como el serotoninérgico, el noradrenérgico, el dopaminérgico y el GABAérgico. Por ejemplo, las ratas sometidas al modelo de desesperanza aprendida tienen disminuida la concentración de dopamina extracelular en el núcleo caudado y en el núcleo accumbens (Anisman et al., 1979), lo cual es revertido por la administración del antidepresivo tricíclico imipramina (Gambarana et al., 1999) que tiene afinidad por receptores a dopamina y a noradrenalina. En otro caso, la desmetilimipramina y el 8-OH-DPAT (un agonista 5-HT<sub>1A</sub>) disminuye los parámetros sugerentes de un estado de desesperanza en ratas sometidas a un modelo de depresión experimental; pero este efecto es bloqueado por la aplicación *in situ* de antagonistas a los receptores de dopamina D<sub>2</sub>/D<sub>1</sub> en el núcleo accumbens (Cervo y Samanin, 1987; Cervo et al., 1988). Estos datos sugieren que las acciones antidepresivas de las sustancias antes señaladas se establecen sobre diversos sistemas de neurotransmisión, lo que en su conjunto constituiría la base neurofisiológica de sus efectos terapéuticos. No obstante, otros estudios señalan que el trastorno depresivo podría estar relacionado con alteraciones en las concentraciones de hormonas gonadales y de neuroesteroides. Así, se apoya la hipótesis de que en la depresión existen cambios neurofisiológicos que subyacen a las modificaciones en el funcionamiento de los sistemas de neurotransmisión y endocrinos que en conjunto juegan un papel importante en la fisiopatología de la depresión.

No obstante lo anterior, aun se requiere de múltiples investigaciones encaminadas a entender cual es el papel que juega cada uno de los sistemas de neurotransmisión y neuroendocrinos en la manifestación de los síntomas de la depresión; así como el mecanismo por el cual diversas sustancias ejercen acciones antidepresivas al interactuar con esos sistemas. Al respecto, el ser humano deprimido es el sujeto de estudio ideal, pero debido a las limitaciones de tipo ético que limitan el uso de técnicas invasivas es necesario acudir a los modelos animales para el estudio experimental de la depresión. Si bien es cierto que los resultados obtenidos a partir de un modelo experimental no pueden ser extrapolados directamente al ser humano, han permitido elaborar hipótesis sobre los mecanismos que subyacen al efecto terapéutico de los antidepresivos, así como las bases neurobiológicas involucradas en la fisiopatología de esta alteración del estado de ánimo.

## **Modelos animales para el estudio experimental de la depresión**

Una gran parte de las bases neurobiológicas que subyacen a la depresión se han identificado en animales sometidos a manipulaciones experimentales que reproducen de alguna manera el trastorno depresivo. Es evidente que el ser humano es el sujeto ideal para investigar y entender los mecanismos cerebrales que desencadenan este trastorno, sin embargo, por limitaciones éticas en cuanto al uso de técnicas invasivas, es necesario utilizar modelos en animales de experimentación, los cuales son herramientas fundamentales para estudiar los procesos neurobiológicos y las acciones de los fármacos utilizados en el manejo de la depresión así como de nuevas sustancias que pudieran ser consideradas como potenciales antidepressivos.

En los modelos experimentales de depresión, los animales son sometidos a situaciones estresantes (naturales o físicas), a manipulaciones químicas o quirúrgicas que promueven en los individuos modificaciones a nivel conductual, neuroquímico y neurofisiológico (Porsolt y Lenégre, 1992; Rodríguez-Landa y Contreras, 1998b; Koob et al., 1998; Contreras et al., 2003). Los modelos experimentales de depresión y de otras alteraciones psiquiátricas deben ser útiles para tres propósitos básicos: 1) detectar el potencial terapéutico de fármacos específicos para el manejo de esos trastornos, 2) proporcionar datos relevantes acerca de los mecanismos de acción de dichos fármacos y 3) constituir una herramienta útil para la determinación de las modificaciones neurobiológicas que subyacen a los trastornos psiquiátricos (Porsolt y Lenégre, 1992). Así, los modelos experimentales han contribuido notablemente al entendimiento de los trastornos psiquiátricos y de los mecanismos subyacentes al tratamiento farmacológico, lo cual depende en gran parte de los criterios de validez con los que cumplan dichos modelos. En este sentido, Willner (1994) propuso tres criterios de validez que permiten calificar a los modelos animales: el de validez predictiva, el de apariencia y el de constructor. El primero se refiere a que todas aquellas manipulaciones que modifican el estado patológico en el ser humano también deben hacerlo en el modelo animal, lo cual es determinado por la respuesta a los tratamientos farmacológicos clínicamente eficaces. El segundo criterio se refiere a la similitud fenomenológica entre el modelo y el desorden modelado, donde se deben representar los síntomas más representativos del desorden y no los síntomas secundarios (Abramson y Seligman, 1977); por ejemplo en el caso de los modelos de depresión no solo deben presentarse síntomas secundarios sino centrales como pudiera ser la anhedonia. Finalmente, el criterio de constructor o de validez hipotética, hace referencia a las bases teóricas subyacentes al trastorno psiquiátrico el cual establece que las hipótesis que explican el trastorno en el ser humano también debe servir como fundamento al modelo. Por mencionar un ejemplo, cuando sometemos a los animales a situaciones de estrés inducimos un estado de desesperanza que se caracteriza por cambios conductuales y neuroquímicos remediando algunos

aspectos de la depresión clínica, lo cual puede ser comparable con las modificaciones conductuales y neuroquímicas subyacentes a los eventos estresantes de la vida diaria que en muchos de los casos pueden ser desencadenantes del trastorno depresivo en sujetos susceptibles.

El modelo experimental de depresión utilizado en el presente estudio fue la prueba de nado forzado propuesto por Porsolt y colaboradores (1977), con modificaciones en cuanto a la forma y tamaño del estanque (Contreras et al., 1995, 2001, 2003; Martínez-Mota et al., 1999; Estrada-Camarena et al., 2002). Este modelo fue seleccionado tomando en cuenta las siguientes ventajas: a) es selectivo en cuanto a la identificación de las acciones de los fármacos antidepressivos, por lo que cumple con el criterio de validez predictiva; b) no requiere de entrenamiento de los animales; c) es económico y d) los resultados obtenidos son fácilmente replicados por distintos investigadores. La prueba de nado forzado ha sido validada en los criterios propuestos por diversos autores (Porsolt y Lenégre, 1992; Willner, 1994) y es uno de los modelos más utilizados en el cernimiento neurofarmacológico de las terapias antidepressivas y en el estudio de las bases neurobiológicas subyacentes al cuadro de depresión experimental (véase apéndice III).

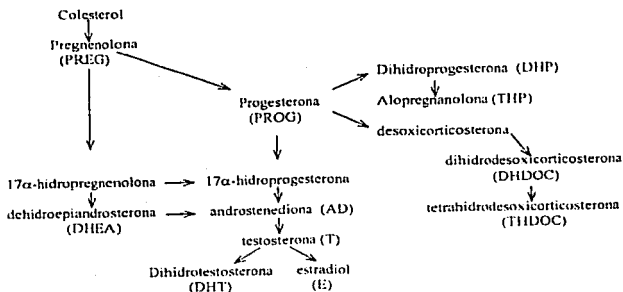
Si bien es cierto que el factor estresante (nado forzado) que desencadena el estado de desesperanza en el modelo de nado forzado no es un evento equiparable a los que cotidianamente experimenta el ser humano, ha permitido obtener datos importantes acerca de base neurobiológica de la desesperanza desde el punto de vista conductual, neuroquímico y electrofisiológico, así como la identificación de sustancias con potencial antidepressivo. Además, las manifestaciones conductuales y los cambios neuroquímicos de los animales sometidos a la prueba de nado forzado son semejantes a los encontrados en modelos animales cuyo factor desencadenante de la patología es un estímulo más natural, tal es el caso de los modelos de estrés psicosocial (véase apéndice IV), los cuales son una aproximación más realista de lo que ocurre cotidianamente en el ser humano. Por tal motivo, es justificado el uso del modelo de nado forzado para evaluar el efecto conductual del neuroesteroide alopregnanolona como potencial sustancia con acción antidepressiva.

### **Biosíntesis de los neuroesteroides**

Los neuroesteroides son aquellos esteroides que se sintetizan a partir del colesterol en el cerebro y pueden ser almacenados en algunas estructuras cerebrales (Baulieu, 1991; Mellon y Vaudry, 2001). La formación de pregnenolona a partir del colesterol (Figura 1) es dependiente de la enzima citocromo P450sc y al parecer es regulada por una proteína inhibidora del ligando al diazepam (Costa et al., 1994). La pregnenolona puede ser convertida a progesterona por la 3- $\beta$ -hidroxiesteroide-deshidrogenasa isomerasa o bien, ser metabolizada por la 21- $\beta$ -hidrolasa para formar

desoxicorticosterona, un proceso que al parecer se lleva a cabo en el cerebro. A su vez, estos compuestos son reducidos en un paso irreversible por la 5 $\alpha$ -reductasa para formar la 5 $\alpha$ -dihidroprogesterona (DHP) y la 5 $\alpha$ -dihidrodesoxicorticosterona (DHDOC), respectivamente.

La formación de la 5- $\beta$ -dihidroprogesterona (5- $\beta$ -DHP) se debe a la reducción de la progesterona por la 5- $\beta$ -reductasa. La DHP Y DHDOC pueden ser reducidas, a su vez, a los esteroides neuroactivos 3 $\alpha$ -21-dihidroxi-5 $\alpha$ -pregnano-20-ona (alotetrahidroprogesterona o alopregnanolona, THIP), 3 $\alpha$ -21-dihidroxi-5 $\alpha$ -pregnano-20-ona (alotetrahidro-desoxicorticosterona, THDOC) y pregnanolona por la enzima 3 $\alpha$ -hidroxiesteroide oxidorreductasa (Rupprecht, 1997). Esta reacción puede darse como un proceso reductivo u oxidativo, dependiendo de los cofactores presentes en el ambiente (Rupprecht et al., 1996). La enzima 3 $\alpha$ -hidroxiesteroide oxidorreductasa es predominante en los astrocitos tipo-I mientras que la 5 $\alpha$ -reductasa se encuentra principalmente en las neuronas (Rupprecht, 1997).

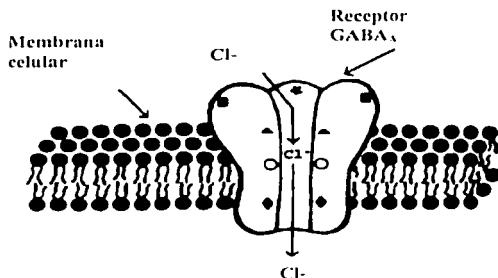


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 1. Esquema simplificado de la síntesis de neuroesteroides.

La síntesis de la THDOC en el cerebro requiere de la producción de la desoxicorticosterona en algunos órganos periféricos, como las glándulas adrenales y las gónadas, ya que hasta el momento no se ha demostrado la presencia de la enzima 21- $\beta$ -hidrolasa en el cerebro (Purdy et al., 1991). Así mismo, se desconoce el origen de la dehidroepiandrosterona (DEA) en el cerebro, debido a que la presencia de la enzima 17- $\alpha$ -hidrolasa, 17,20 liasa no ha sido demostrada hasta el momento (Rupprecht, 1997).

Los neuroesteroides THDOC y THP pueden ser considerados moduladores alostéricos positivos del receptor  $GABA_A$ , debido a que incrementan la frecuencia y duración de apertura del canal  $Cl^-$  al cual esta acoplado (Purdy et al., 1991; Majewska, 1992). Más aún, a concentraciones elevadas (del orden de micromoles), estos neuroesteroides muestran propiedades agonistas en ausencia del GABA (Puia, 1990). La acción neuromoduladora de los neuroesteroides al parecer puede ser mediada por una acción directa sobre el complejo receptor  $GABA_A$  (Figura 2), en un sitio diferente a las benzodiazepinas y los barbitúricos, o de manera indirecta a través de mecanismos que implican fosforilación (Lambert et al., 1995) y mediante acciones en proteínas cinasas y fosfatasas (Rupprecht, 1997).



TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

**Figura 2.** Esquema representativo de un receptor  $GABA_A$ . Este receptor está constituido por varias subunidades que conforman un canal iónico y contiene sitios de reconocimiento de varias sustancias como el GABA (\*), las benzodiazepinas (■), algunos neuroesteroides (▲), los barbitúricos (○) y la picrotoxina (◆). Tomado de Rodríguez-Landa y Contreras, 1998.

Por otra parte, diversos estudios señalan la relación entre la estructura química y la actividad de los neuroesteroides sobre el receptor  $GABA_A$ . De acuerdo con estos, la presencia del grupo  $3\alpha$ -hidroxi dentro del anillo "A" de estas moléculas es determinante para que ejerzan su actividad alostérica sobre el receptor (Gee et al., 1988), por tanto, los neuroesteroides que carezcan de estas propiedades no pueden modificar la afinidad del  $GABA_A$  (Rupprecht et al., 1993). Sin embargo, los esteroides como el

sulfato de DEA y el sulfato de pregnenolona son antagonistas del receptor GABA<sub>A</sub> (Majewska et al., 1988) y carecen de esta estructura química. Finalmente, el receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) y el receptor a glicina también son blanco de los neuroesteroides (Wu et al., 1991); y, la progesterona y la DEA pueden modular la liberación de norepinefrina provocada por el receptor NMDA en el hipocampo de la rata a través de los receptores  $\sigma$  (Rupprecht, 1997).

#### **Implicación de los neuroesteroides en la motivación y la emoción.**

Las hormonas esteroideas actúan en varias estructuras cerebrales, el mecanismo por el cual ejercen sus acciones involucra la activación de receptores de membrana que promueve cambios inmediatos en la excitabilidad neuronal, en tanto que la interacción con receptores intracelulares, particularmente del núcleo, tiene como consecuencia cambios en la síntesis de proteínas (Rupprecht y Holsboer, 2001). Lo cual explica una de las capacidades de las hormonas esteroideas para producir efectos a corto y largo plazo en sistemas de neurotransmisión involucrados en la regulación de los estados motivacionales (McEwen et al., 1982).

Los esteroides neuroactivos y los neuroesteroides actúan a nivel neuronal sobre diferentes receptores membranales: a) receptores para neurotransmisores sobre los cuales ejercen una modulación alostérica; b) receptores de membrana acoplados a proteínas G; y, c) mediante sitios específicos de membrana utilizando al calcio como mensajero intracelular. Sin embargo, también es posible la interacción de los neuroesteroides con receptores de neuropéptidos unidos a la membrana celular (Majewska, 1992), véase tabla 1.

**Tabla 1. Acciones de neuroesteroides**

NOMBRE	ACCIÓN SOBRE EL RECEPTOR	EFECTOS EXPERIMENTALES
Pregnenolona	Agonista al receptor GABA	Mejora la memoria, disminuye los síntomas del SPM*
Sulfato de pregnenolona	Antagonista al receptor GABA Modulador positivo NMDA	Mejora la memoria (retención)
Progesterona	Agonista al receptor GABA	Sedante, ansiolítico, anti-agresión, antidepressivo, facilita la conducta sexual (apareamiento), reduce la sintomatología de SPM*
Dihidroprogesterona	Agonista al receptor GABA	Disminuye los síntomas del SPM*
Alopregnanolona.	Agonista al receptor GABA	Anestésico, ansiolítico, anti-agresión, anticonvulsivante, anticonflito, atenúa la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal ante el estrés emocional, facilita el apareamiento, disminuye los síntomas del SPM*
Tetrahidrodesoxicorticosterona	Agonista al receptor GABA	Regula la respuesta al estrés
Testosterona	Ligando del receptor a andrógenos	Agresión, interacción social, ansiedad, regula la conducta sexual.
Dehidroepiandrosterona	Antagonista GABA	Mejora la retención de memoria.
Estradiol	Receptor para estrógenos	Regula la ansiedad y la depresión; induce la conducta sexual.

\* SPM, síndrome premenstrual.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Las acciones de los neuroesteroides se establecen principalmente al modificar la funcionalidad del receptor GABA, particularmente del GABA<sub>A</sub>. El ácido- $\gamma$ -amino-buti-rico (GABA) se produce a partir del ácido L-glutámico y es el principal neurotransmisor inhibitor del SNC, produce hiperpolarización de las neuronas posinápticas incrementando el flujo de iones cloro hacia el interior de la célula. Los receptores a GABA se clasifican en: 1) GABA<sub>A</sub> que es un receptor posináptico ionotrópico que está acoplado a un canal de cloro, posee sitios alostéricos para benzodiazepinas, barbitúricos y posiblemente neuroesteroides; y 2) el GABA<sub>B</sub>, que es un receptor metabotrópico acoplado a segundos mensajeros, su activación induce una hiperpolarización que podría estar dada por la salida de iones K<sup>+</sup> o bien, por el cierre de canales de calcio.

Hacia 1980, se demostró que los neuroesteroides alopregnanolona y THDOC modifican la excitabilidad neuronal por interacción con el receptor GABA<sub>A</sub> e incrementan el ingreso a la célula de iones Cl<sup>-</sup> provocado por el GABA, algunos neuroesteroides son considerados moduladores alostéricos positivos del receptor GABA<sub>A</sub> dado que incrementan la frecuencia y la duración de la apertura de los canales para el Cl<sup>-</sup>. Las acciones que ejercen los neuroesteroides sobre el SNC dependen de los cambios conformacionales que sufren durante su biotransformación. Así, los metabolitos 3 $\alpha$  reducidos

que contienen un grupo hidroxilo libre poseen una mayor efectividad para incrementar las acciones inhibitorias mediadas por el GABA. Mientras que la hidroxilación en la posición 11 $\alpha$  y 12 $\alpha$  reduce considerablemente la actividad sobre el sistema GABAérgico. Dependiendo del grupo funcional que se encuentre en el carbono 17 de la serie de metabolitos 5 $\alpha$  reducidos, serán los efectos inhibitorios (17 $\beta$ acetil > 17 $\beta$ ciano > 17 $\beta$ metoxicarbonil > 17 $\alpha$ acetil > 17-ona > 17-oxima o 17 $\alpha$ ciano). La presencia de dobles enlaces (entre los carbonos 9 y 11) también modifica la capacidad de los metabolitos para producir efectos inhibitorios mediados por el sistema GABAérgico.

Las alteraciones funcionales del sistema GABAérgico han sido relacionadas con los trastornos del estado de ánimo. Se ha sugerido que la depresión puede resultar de déficits GABAérgicos, esto se apoya en el hecho de que algunos pacientes deprimidos tienen bajas concentraciones plasmáticas de GABA, mientras que en sujetos suicidas disminuye el número de receptores GABA<sub>A</sub> y en que diversos fármacos con acciones agonistas sobre el GABA, son a la vez excelentes anticonvulsivantes y poseen además propiedades antidepresivas y ansiolíticas (Drugan et al., 1986, Pesold y Treit, 1994, 1996).

Por otra parte, a lo largo de la vida reproductiva de la mujer existen periodos en los que se exacerban la incidencia y la severidad de alteraciones del estado de ánimo. Tal es el caso de la fase lútea tardía o período premenstrual, del postparto y de la menopausia, las cuales se caracterizan por cuadros de depresión y de ansiedad, lo que coexiste con niveles bajos de hormonas gonadales. Por el contrario, durante la ovulación y a partir del segundo tercio del embarazo, cuando las concentraciones hormonales están elevadas, las mujeres reportan mejora en el estado de ánimo (Soler-Huerta, 2001). Esto ha llevado a proponer que las hormonas esteroidales son neuromoduladoras del estado de ánimo y que sus acciones estarían mediadas, al menos parcialmente, por el sistema GABAérgico (Pearlstein, 1995). Durante un tiempo, la única función asignada a la progesterona fue como responsable del establecimiento de los caracteres sexuales femeninos y el mantenimiento del feto a lo largo de la gestación, sin embargo, ahora sabemos que en animales de experimentación la progesterona y otras progestinas (precursores y metabolitos de la progesterona) inducen anestesia, analgesia e hipnosis por acciones directas sobre el receptor GABA<sub>A</sub> (Majewska, 1992). En modelos animales empleados para evaluar la ansiedad, se ha encontrado que la progesterona ejerce un efecto ansiolítico, el cual se atribuye principalmente a sus metabolitos reducidos, como la alopregnanolona (Rupprecht, 1997). La progesterona mejora el desempeño de los animales en pruebas conductuales útiles para evaluar la potencia de fármacos antidepresivos (pruebas de nado forzado y suspensión del rabo). En las hembras existe una correlación positiva entre los niveles de progesterona y la capacidad del animal para resolver



la situación de apremio que enfrenta, por lo tanto, la progesterona se comporta como un ansiolítico y antidepressivo endógeno (Contreras et al., 2000), lo que concuerda con los hallazgos clínicos (Backstrom et al., 1985; Bicikova et al., 1998a,b; Girdler et al., 2001; Nappi et al., 2001).

Por otra parte, el estradiol es la hormona más potente para reestablecer la conducta sexual y la citología vaginal característica de la fase de estró. Los estrógenos por sí mismos inducen la conducta típica del estró, pero este efecto se presenta con mayor intensidad cuando los animales impregnados con estradiol reciben una inyección de progesterona. Esto es importante si se considera que la expresión de la conducta reproductiva involucra un componente motivacional, el cual podría estar mediado por la combinación estradiol-progesterona. Esto último puede explicarse considerando la capacidad del estradiol para activar receptores a progesterona y modificar la sensibilidad de receptores GABAérgicos (McEwen, 1991). En consistencia, la ovariectomía incrementa hasta cuatro veces el número de receptores a GABA en el hipotálamo mediobasal, el área preóptica medial, la amígdala corticomedial y la corteza cerebral, mientras que el tratamiento con estradiol y progesterona restablece a valores basales la densidad de receptores GABA.

El sistema nervioso inicialmente es asexual, y los receptores a estradiol se desarrollan en ambos géneros, pero, en el macho la testosterona es convertida a estradiol en el cerebro y el complejo estradiol-receptor es translocado al núcleo de la célula donde regula la transcripción genética que organiza el cerebro del macho. En la rata macho adulta, el aporte de testosterona está dado por la gónada y las glándulas adrenales. La enzima aromatasa o estrógeno sintetasa que cataliza la conversión de andrógenos a estrógenos, está presente en el SNC de los vertebrados; además de ser abundante en la placenta y el tejido gonadal (Mensah-Nyagan et al., 1999). La aromatización de andrógenos a estrógenos en SNC es necesaria para el desarrollo y la manifestación de diversas conductas y respuestas endócrinas en animales adultos. Existen dos sistemas neuronales de aromatasa, el hipotalámico o diencefálico, que desaparece diez días después de la gonadectomía en la rata, y el sistema telencefálico subcortical o límbico que no se modifica por la gonadectomía. El primero parece participar en conductas reproductivas dependientes de estrógenos, mientras que el segundo está relacionado con la modulación de conductas motivacionales sensibles a hormonas esteroidales (Jakab et al., 1993).

Además de las interacciones ya mencionadas entre neuroesteroides y el sistema GABAérgico, las hormonas esteroidales promueven la expresión de receptores a 5-HT. En efecto, la concentración de 5-HT, la densidad de diferentes subtipos de receptores a 5-HT y la respuesta a agonistas serotoninérgicos varía de acuerdo a los cambios de secreción de las hormonas gonadales. Los efectos de las hormonas

gonadales son regulados por 5-HT y ciertas conductas como la agresión y la reproducción, son moduladas tanto por 5-HT como por las hormonas gonadales. Adicionalmente, se ha demostrado que los estrógenos administrados de manera exógena modulan la transcripción de diferentes subtipos de receptores 5-HT (McEwen y Parsons, 1992). Así, los efectos de los principales neuroesteroides en la conducta son múltiples, con algunas acciones directas y otras que se establecen por la interacción con otros sistemas de neurotransmisión, particularmente el serotoninérgico, el dopaminérgico y el GABAérgico (Khisti y Chopde, 2000; Barbaccia et al., 1996, 1997; Rouge-Pont et al., 2002).

### **Implicación de las hormonas gonadales y los neuroesteroides en los trastornos del estado de ánimo**

Existen diversos estudios en el ser humano que indican una mayor incidencia de depresión y ansiedad en el género femenino con respecto al masculino (Hirschfeld y Klerman, 1984; Breslau et al., 1995; DSM-IV, 1994) y que el trastorno por ansiedad al cabo del tiempo puede preceder a la depresión mayor (Angst et al., 1990; Breslau et al., 1995). A lo largo del desarrollo biológico de la mujer hay etapas en las que se presenta una mayor incidencia de síntomas de ansiedad y depresión relacionados con el descenso de las concentraciones de hormonas gonadales como el estradiol la progesterona y algunos de sus metabolitos  $\alpha$ -reducidos como la alopregnanolona (Price y Di-Marzio, 1986; Edicott y Helbreich, 1988; Contreras et al., 1989c).

En este sentido, la ansiedad y la depresión en mujeres con síndrome premenstrual o durante el climaterio se relacionan con bajos niveles circulantes de estradiol, progesterona y alopregnanolona (Halbreich et al., 1986; Pearlstein, 1995; Rapkin et al., 1997; Biciokoba et al., 1998; Straneva et al., 1999; Griffin et al., 2001). Por otro lado, la depresión postparto se presenta en aquellas mujeres que tuvieron niveles anormalmente elevados de progesterona durante la gestación, sugiriendo un posible síndrome de abstinencia a dicha hormona (Harris et al., 1994). Adicionalmente, las mujeres que padecen depresión postparto tienen significativamente reducida la concentración periférica de progesterona y alopregnanolona, encontrándose una correlación negativa entre el puntaje de la escala de depresión de Hamilton y los niveles circulantes de estas hormonas (Nappi et al., 2001). En contraparte, la administración oral de progesterona decrecienta los síntomas de ansiedad y depresión en mujeres que padecen el síndrome premenstrual (Dennerstein et al., 1985), al parecer al restaurar las concentraciones circulantes de la alopregnanolona (Freeman et al., 1993).

En apoyo a estas observaciones clínicas, diversos estudios en animales de laboratorio muestran diferencias conductuales y farmacológicas ligadas al sexo, cuando los animales son sometidos a

modelos experimentales de ansiedad o depresión (Alonso et al., 1991; Contreras et al., 1995; Meng y Drugan 1993; Zimmenberg y Farley, 1993; Wilson y Biscardi, 1994). Las hembras son las que mejor responden al tratamiento farmacológico respecto a los machos (Contreras et al., 1995). Esta respuesta parece estar mediada en parte por los niveles hormonales de progesterona y otras hormonas a lo largo del ciclo estral. Por ejemplo, el efecto de los ansiolíticos (Bitran et al., 1991b; 1999; Carey et al., 1992) y los antidepresivos (Contreras et al., 1998) se potencian durante la fase de proestro-estro, es decir, cuando las concentraciones de progesterona y otras hormonas se encuentran incrementadas (Feder, 1981; Freeman, 1988). En la prueba de nado forzado, un modelo experimental para evaluar las acciones de los tratamientos antidepresivos, la administración sistémica (Martínez-Mota et al., 1999) o *in situ* de progesterona en el núcleo septal lateral disminuye la inmovilidad en ratas ovariectomizadas, un efecto que es bloqueado por la administración previa de picrotoxina, un antagonista de los receptores GABA<sub>A</sub> (Estrada-Camarena et al., 2002). De igual manera la administración de alopregnanolona en el ratón reduce la inmovilidad en la prueba de nado forzado, un efecto bloqueado por la administración previa de bicuculina, un antagonista selectivo para los receptores GABA<sub>A</sub> (Khisti et al., 2000). Por otro lado, la acción ansiolítica de la desmetilimipramina en la prueba de enterramiento defensivo es facilitada por la administración conjunta de estradiol o progesterona (Martínez-Mota et al., 2000). Aunque las acciones ejercidas por las hormonas esteroides no son del todo conocidas, existen evidencias de que sus acciones se establecen sobre diversos sistemas de neurotransmisión en estructuras cerebrales en las que los antidepresivos y/o ansiolíticos ejercen algunas de sus acciones.

#### **Acciones de las hormonas gonadales y los neuroesteroides sobre el sistema nervioso central**

Las hormonas esteroidales ejercen algunas de sus acciones sobre el SNC a través de receptores localizados intracelularmente; sin embargo, tanto los esteroides como los neuroesteroides actúan también a nivel de receptores de membrana modificando a corto plazo pautas conductuales como la agresión, la ansiedad y probablemente el estado afectivo del individuo. El estradiol y la progesterona ejercen acciones contundentes sobre receptores localizados en estructuras cerebrales que regulan el comportamiento. Por ejemplo, las acciones de las hormonas esteroidales se establecen sobre receptores celulares de estructuras límbicas entre ellas el núcleo septal lateral, la amígdala y el hipocampo (Bitran et al., 1999; Estrada-Camarena et al., 2002; Frye y Wolf, 2002), las cuales participa en la expresión de pautas conductuales sugerentes de ansiedad y depresión experimental (Contreras et al., 1990a; Yadin et al., 1993). El estradiol y la progesterona, además de regular la actividad sexual, también intervienen en la regulación de la evitación condicionada, la agresión, la ingesta de agua y de alimento y la actividad

locomotora (Díaz-Veliz et al., 1991, 1994). De manera particular, a la progesterona y sus metabolitos  $\alpha$ -reducidos como la pregnanolona y la alopregnanolona, además de sus acciones hipnóticas y sedantes, también se les han atribuido acciones ansiolíticas en el ser humano (Freeman et al., 1993) y en animales sometidos a las pruebas que exploran ansiedad, como es el caso de la prueba de enterramiento defensivo y la de laberinto de brazos elevados (Bitran et al., 1991a, 1995; Fernández-Guasti et al., 1992; Fernández-Guasti y Picazo, 1995). Adicionalmente, la administración de progesterona a ratas (Martínez-Mota et al., 1999) y de alopregnanolona a ratones (Khisti et al., 2000) reduce la inmovilidad en la prueba de nado forzado de manera semejante a los antidepresivos eficaces clínicamente. Adicionalmente, durante la fase de proestro-estro, en la que las concentraciones de progesterona están más elevadas, se incrementa la tasa de disparo de las neuronas septales, un efecto que al parecer está relacionado con la disminución de la inmovilidad de los animales forzados a nadar en esta etapa del ciclo estral (Contreras et al., 2000), como se observa al administrar el antidepresivo fluoxetina (Contreras et al., 2001). Del mismo modo, en el día 14 de gestación de la rata, cuando se alcanzan las mayores concentraciones hormonales, se reducen los parámetros sugerentes de desesperanza en la prueba de nado forzado y en el modelo de condicionamiento operante lo cual es equiparable a los que ejercen los antidepresivos efectivos clínicamente (Molina-Hernández et al., 2000; Molina-Hernández y Téllez-Alcántara, 2001).

Las hormonas interactúan con sistemas de neurotransmisión que participan en la ansiedad y en la depresión, y en las acciones de los fármacos utilizados en el manejo de estos trastornos; entre estos sistemas encontramos al serotoninérgico, al dopaminérgico y al GABAérgico (Baldessarini, 1991; Contreras et al., 2002), entre otros. La progesterona aumenta el recambio de 5-HT en estructuras cerebrales involucradas en la integración de los procesos afectivos (Ladisich, 1977), lo que podría estar relacionado con los cambios conductuales y hedónicos asociados al tratamiento con dicha hormona. En adición, el estradiol y la progesterona sensibilizan a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Sietniéks y Meyerson, 1980, 1982; Biegon et al., 1982), los cuales intervienen en las acciones de las terapias antidepresivas (Owens y Nemeroff, 1994). La 5-HT está implicada en la regulación del estado afectivo que en ocasiones acompaña al síndrome premenstrual, puesto que durante la fase lútea de mujeres que padecen este síndrome se detectan concentraciones plasmáticas disminuidas de 5-HT (Rapkin et al., 1987), lo que sugiere que los esteroides podrían influir en las manifestaciones de los trastornos afectivos durante el síndrome premenstrual al modificar la neurotransmisión serotoninérgica (Biegon et al., 1982; Sietniéks y Meyerson, 1982). Así mismo, el estradiol afecta de diferente manera a los receptores serotoninérgicos, pues en concentraciones fisiológicas normales se incrementan los sitios de recaptura para la 5-HT, pero

en concentraciones elevadas de estradiol ejercen el efecto contrario (Wilson et al., 1988). En otro caso, la administración de estrógenos desensibiliza a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> presinápticos, por lo que la respuesta provocada por su agonista 8-OH-DPAT (Lakoski et al., 1988); además, aumenta el número de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> en la corteza frontal, el cíngulo y el núcleo accumbens (Sumner y Fink, 1995; Finck et al., 1996), mientras que en el núcleo dorsal del rafe modula la función del transportador serotoninérgico (Rehavi et al., 1998).

Otro sistema de neurotransmisión sobre el cual las hormonas ejercen algunos efectos es el GABAérgico (Paul y Purdy, 1992). La progesterona y sus metabolitos  $\alpha$ -reducidos ejercen acciones agonistas sobre los receptores GABA<sub>A</sub>, incrementando el flujo de los iones Cl<sup>-</sup>, de manera similar a las benzodiazepinas y los barbitúricos (Lambert et al., 1995). Esta acción, parece ser mediada por un sitio específico dentro del complejo GABA/benzodiazepina/Cl<sup>-</sup> (Majewska, 1992); de tal manera que los neuroesteroides pueden regular la excitabilidad neuronal modulando la actividad del receptor GABA<sub>A</sub>. Por ejemplo, cuando las concentraciones de pregnenolona y de DEA aumentan bajo ciertas condiciones fisiológicas, la excitabilidad del sistema nervioso y el estado de alerta también se incrementan; por el contrario, cuando incrementa la concentración de alopregnanolona y de THDOC, aumenta la regulación inhibitoria ejercida por el receptor GABA<sub>A</sub> (Majewska, 1992).

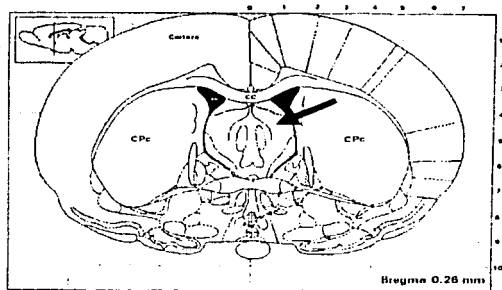
Las hormonas también ejercen acciones sobre el sistema dopaminérgico. La administración de estradiol o progesterona a ratas ovariectomizadas modula la función del transportador de dopamina en el núcleo accumbens (Rehavi et al., 1998), efecto que al parecer sólo se produce en el cerebro de las hembras, pero no en el de los machos (Aitali et al., 1997). Estas hormonas incrementan los sitios de recaptura para la dopamina en el cuerpo estriado, pero no se modifican en el núcleo accumbens ni en la sustancia nigra (Morissette y Di Paolo, 1993). Adicionalmente, la administración de estradiol facilita la liberación de dopamina en el estriado, asociada a la administración de Anfetaminas (Becker y Rudick, 1999) y se incrementa la síntesis de dopamina y el número de los receptores D<sub>2</sub> en el cuerpo estriado (Pasquahm et al., 1996).

Es evidente que las hormonas esteroidales contribuyen a la regulación de sistemas de neurotransmisión en estructuras involucradas en la fisiopatología de los trastornos afectivos. Los cambios de la actividad neuronal consecutivos a la administración de fármacos antidepresivos o de las hormonas esteroidales pueden estar relacionados con la disponibilidad del neurotransmisor en la sinapsis, así como con posibles modificaciones funcionales a nivel de los receptores que conducen al

incremento o disminución de la actividad neuronal. El incremento o la disminución de la actividad neuronal del núcleo septal lateral pueden estar correlacionados con aspectos de la conducta motivada y con el estado de ánimo del individuo (Yadín y Thomas 1981; Contreras et al., 2000, 2001). Cuando los animales anticipan un evento gratificante (como el acceso al alimento) se incrementa la actividad neuronal del núcleo septal lateral, mientras que al percibir un estímulo aversivo ocurre lo contrario, es decir, se reduce la tasa de disparo de las neuronas septales (Yadín y Thomas, 1981); luego entonces, los cambios de la actividad neuronal asociados a los tratamientos antidepressivos (Contreras et al., 2001) o a las fluctuaciones de las concentraciones hormonales (Contreras et al., 2000) pudieran estar relacionados con la respuesta conductual de los animales sometidos a pruebas que evalúan estados emocionales sugerentes de ansiedad o depresión, que de alguna manera nos señalan la disminución o el incremento de los indicadores relativos de la desesperanza o la ansiedad experimental. Esta posibilidad la hemos explorado en estudios previos de nuestro grupo de trabajo tratando de relacionar la respuesta conductual de los animales en la prueba de nado forzado con la actividad neuronal del núcleo septal lateral de la rata, bajo el tratamiento antidepressivo o durante las fases del ciclo estral caracterizadas por niveles elevados de hormonas gonadales (Contreras et al., 2000, 2001, 2003).

#### **Núcleo septal lateral**

El núcleo septal lateral (Figura 3) es un componente bilateral del sistema límbico, rico en terminales serotoninérgicas provenientes del núcleo dorsal del rafe, uno de los principales reservorios de 5-HT. El núcleo septal lateral se localiza por debajo de las regiones mediales y anteriores del cuerpo calloso, entre los "cuernos" de los ventrículos laterales y dorsalmente a la comisura anterior. Hacia delante, está rodeado por el rudimento hipocampal anterior y hacia atrás, por las comisuras anteriores. Ventrolateralmente, lo rodea la isla magna de Calleja, que lo separa del núcleo accumbens (Jakab et al., 1995).

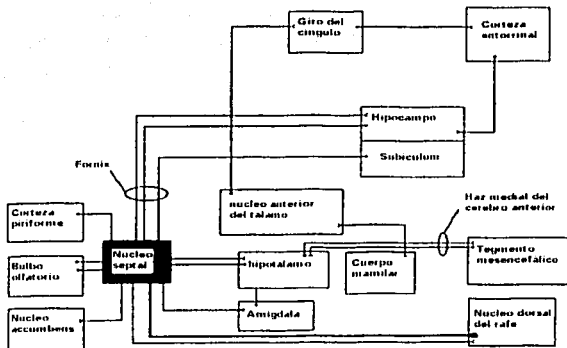


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Figura 3.** Esquema representativo de un corte transversal de un cerebro de rata, donde se muestra al núcleo septal lateral en sus aspectos dorsal X e intermedio□. CPu, núcleo caudado-putamen; cc, cuerpo calloso (Tomado de Paxinos y Watson, 1982).

Además de las aferencias serotoninérgicas, noradrenérgicas y dopaminérgicas que recibe el núcleo septal lateral, se han identificado neuronas que utilizan acetilcolina como neurotransmisor; así como neuronas colinérgicas y GABAérgicas (Jakab y Lerant, 1995). Algunas neuronas contienen hormona liberadora de gonadotropinas, vasopresina, encefalinas, así como proteínas ligadas al calcio, aminoácidos excitadores como el glutamato y el aspartato; y en la porción lateral, existen numerosos cuerpos neuronales GABAérgicos (Jakab y Lerantli, 1990, 1991). También, algunas poblaciones neuronales en este núcleo pueden almacenar hormonas esteroidales (Pfaff y Keiner, 1973) y adrenales (McEwen et al., 1986), además de contener enzimas aromatasas que catalizan la conversión de testosterona a estradiol (Jakab et al., 1994; Kawata, 1995). Algunas neuronas septales también expresan receptores a andrógenos (Simmerly et al., 1990; Lu et al., 1998; Wood y Newman, 1999). Al parecer estas neuronas septales responden a las hormonas esteroidales circulantes, por lo tanto, pueden modular la actividad de dichas neuronas en respuesta a diferentes condiciones fisiológicas y ambientales.

Al núcleo septal lateral y sus conexiones con otras estructuras cerebrales (Figura 4) se les ha implicado en el control de funciones fisiológicas y conductuales relacionadas con procesos cognoscitivos (aprendizaje y memoria), con la regulación y expresión de las emociones (miedo, agresión, ansiedad y depresión); así como con la ingesta de alimento y agua, además de la termorregulación, la osmorregulación y algunas respuestas inmunes (Jakab y Lerantli, 1995).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 4. Diagrama con las principales aferencias y eferencias del núcleo septal lateral con otras estructuras cerebrales. El núcleo septal lateral recibe proyecciones directas del hipocampo, del hipotálamo, del bulbo olfatorio y de la amígdala, entre otras. También recibe fibras serotoninérgicas del núcleo dorsal de rafe, el principal reservorio de serotonina (Tomado de Díaz-Meza, 2000).

El área septal y sus conexiones regulan el estado hedónico del individuo, dado que los animales con electrodos implantados en esta área despliegan una alta tasa de autoestimulación intracerebral (Olds y Millner, 1954). Los animales sometidos a esta maniobra experimental prefieren la autoestimulación que el alimento, la actividad sexual o la ingesta de drogas altamente adictivas; de ahí que a esta área se le identifique como zona de placer. Entonces, es factible relacionar el estado anhedónico del paciente deprimido con la disfunción de las porciones del cerebro susceptibles al fenómeno de autoestimulación, lo que se apoya en observaciones experimentales de que la administración de diversos antidepressivos efectivos clínicamente aumenta la tasa de autoestimulación intracerebral de los animales (McCarter y Kokkinidis, 1988). Por otro lado, el septum lateral participa en la expresión de componentes sugerentes de ansiedad o miedo. En este sentido, mediante el registro de la actividad multiunitaria y de registro unitario extracelular se ha demostrado que la actividad neuronal del septum lateral disminuye cuando los animales anticipan un estímulo aversivo -por ejemplo, un choque eléctrico en las patas- (Yadin y Thomas, 1981) o cuando son sometidos a modelos de depresión experimental como el nado forzado (Contreras et al., 2003; Gutiérrez-García et al., 2003; y, por el contrario, se incrementa cuando los animales reciben un reforzador positivo como el alimento (Vetulani, 1984; Yadin y Thomas, 1981) o bajo el tratamiento antidepressivo (Contreras et al., 1988, 1990, 1995, 2001).



Ahora bien, de ser el caso que las terapias antidepressivas produzcan un incremento en la frecuencia de disparo de las neuronas septales, también es posible que en un estado de desesperanza ocurra un abatimiento del disparo neuronal de esta estructura. En efecto, la tasa de disparo de las neuronas septales disminuye cuando los animales anticipan un estímulo estresante (Yadin y Thomas, 1981; Thomas et al., 1991), y por el otro, en los animales sometidos a situaciones estresantes, como la prueba de nado forzado o al paradigma de desesperanza aprendida, también disminuye la tasa de disparo de las neuronas septales (Contreras et al., 2003; Gutiérrez-García et al., 2003). Por otro lado, en animales estresados se observa un aumento de la utilización de glucosa (Duncan et al., 1993) y disminución de la 5-HT extracelular en el septum lateral (Kirby et al., 1995), lo cual se relaciona con la desesperanza conductual. De esta manera, se puede establecer que los cambios en el funcionamiento de las neuronas septales se relaciona con el componente emocional y afectivo del individuo; claro está, sin descartar la participación de otras estructuras y otros sistemas de neurotransmisión que en conjunto pudiera ser parte de las bases anatomofuncionales de la ansiedad y la depresión.

En resumen, en la depresión participan diversos sistemas de neurotransmisión y neuroendocrinos que ejercen sus acciones sobre estructuras cerebrales específicas; entre ellas el núcleo septal lateral. En esta estructura se ha detectado que después de la administración sistémica de diversos antidepressivos efectivos clínicamente y algunas hormonas como la progesterona y otros neuroesteroides ejercen ciertas acciones neurofisiológicas, al modificar la transmisión serotoninérgica, dopaminérgica o GABAérgica; lo que posiblemente se relacione con las acciones ansiolíticas y/o antidepressivas producidas por esas sustancias. Sin embargo, a la fecha son escasos los estudios que hayan explorado el efecto que produce la administración del neuroesteroide alopregnanolona en modelos animales de depresión como es la prueba de nado forzado (Porsolt et al., 1977; Borsini et al., 1989; Detke et al., 1997) y sobre la actividad neuronal de estructuras en las que los antidepressivos y algunas hormonas ejercen sus acciones, como el núcleo septal lateral (Contreras et al., 1989, 1990a, 1993a, 1993b, 1995, 2000). Asimismo, se desconoce si existe alguna relación entre la tasa de disparo de las neuronas de dicho núcleo y la respuesta conductual en la prueba de nado forzado asociada al tratamiento con alopregnanolona. Por tal motivo, en el presente trabajo se evaluó la acción del neuroesteroide alopregnanolona en la prueba de nado forzado y su relación con la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral de ratas hembras ovariectomizadas de la cepa Wistar. Adicionalmente, se exploró la participación del receptor GABA<sub>A</sub> en la regulación de esas acciones, mediante el pretratamiento con picrotoxina, un antagonista a dicho receptor.

## JUSTIFICACIÓN

Los neuroesteroides ejercen diversas acciones sobre circuitos neuronales involucrados en la regulación del componente afectivo del individuo, además de su conocida participación en la reproducción. Son sustancias sintetizadas en algunas estructuras del cerebro que participan en la regulación del estado de ánimo, a través de mecanismos que involucran al complejo receptor GABA<sub>A</sub>/benzodiazepina/Cl<sup>-</sup>, entre otros sistemas de neurotransmisión. Por ello, se sugiere que las acciones de los neuroesteroides modulan la expresión de conductas relacionadas con la ansiedad y la depresión a través de su interacción con sistemas de neurotransmisión en estructuras límbicas donde los ansiolíticos y los antidepresivos establecen sus acciones. En el ser humano se ha encontrado que en el líquido cerebroespinal de pacientes con depresión unipolar mayor, las concentraciones de alopregnanolona se encuentran disminuidas. En tanto que las bajas concentraciones de progesterona y alopregnanolona durante la menopausia o el síndrome premenstrual se asocian con desordenes diversos del estado de ánimo incluyendo la disforia, la tensión, la ansiedad y la depresión. Adicionalmente, la administración de alopregnanolona en animales de experimentación produce efectos antiestrés, ansiolíticos, anticonvulsivantes y catalépticos. En adición, Khisti y colaboradores (2000) reportaron por primera vez que en el ratón la alopregnanolona aplicada por vía sistémica o intracerebroventricular ejerce acciones antidepresivas en la prueba de nado forzado por un proceso mediado a través del sistema GABAérgico. No obstante, la acción antidepresiva de la alopregnanolona ha sido poco estudiada y se carece de estudios que relacionen la respuesta conductual ejercida por la alopregnanolona en la prueba de nado forzado con la actividad neuronal de estructuras cerebrales implicadas en la fisiopatología de la depresión y en las acciones de los antidepresivos clínicamente eficaces, como el núcleo septal lateral. Por lo anterior, en la presente tesis se evaluó el efecto de la administración sistémica de alopregnanolona en la prueba de nado forzado para detectar la dosis mínima efectiva que ejerce la acción antidepresiva, y posteriormente evaluar su efecto sobre la actividad neuronal del núcleo septal lateral de ratas hembra ovariectomizadas de la cepa Wistar. También, se exploró el papel que juega el receptor GABA<sub>A</sub> en las acciones ejercidas por la alopregnanolona a nivel conductual y electrofisiológico. De esta manera aportamos datos sobre la relación que existe entre la actividad neuronal del núcleo septal lateral y la respuesta conductual en la prueba de nado forzado de los animales bajo el tratamiento con el esteroide neuroactivo alopregnanolona, lo cual contribuye al entendimiento de los mecanismos neurobiológicos que subyacen a la acción tipo antidepresivo descrita para alopregnanolona.

## HIPÓTESIS

- \* La administración sistémica de alopregnanolona a ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar reduce de manera dosis dependiente el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado.
- \* La administración sistémica de la dosis mínima efectiva de alopregnanolona y progesterona a ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar reduce el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado de manera diferencial a lo largo del tiempo.
- \* La administración de la dosis mínima efectiva de alopregnanolona que reduce el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado, incrementa la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral de ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar.
- \* La administración previa de picrotoxina, un antagonista del receptor GABA<sub>A</sub>, bloquea la reducción del tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado producido por la administración de la dosis mínima efectiva de alopregnanolona en ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar.
- \* La administración previa de picrotoxina, un antagonista del receptor GABA<sub>A</sub>, bloquea el incremento de la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral producido por la administración de la dosis mínima efectiva de alopregnanolona en ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar.

## OBJETIVOS

### General

Explorar las acciones ejercidas por la alopregnanolona en la prueba de nado forzado y sobre la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral de ratas hembras ovariectomizadas; así como la participación del receptor  $GABA_A$  en dichas acciones.

### Particulares

- \* Realizar la curva dosis-respuesta para alopregnanolona en la prueba de nado forzado, para identificar la dosis mínima efectiva que reduce el tiempo total de inmovilidad en dicha prueba.
- \* Determinar la duración del efecto anti-inmovilidad de la alopregnanolona en la prueba de nado forzado y compararla con la ejercida por la progesterona en dicha prueba.
- \* Determinar si la administración previa del antagonista del receptor  $GABA_A$ , picrotoxina, bloquea la acción de la dosis mínima efectiva de alopregnanolona en la prueba de nado forzado.
- \* Determinar si la dosis mínima efectiva de alopregnanolona que reduce el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado, incrementa la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral y si dicha acción puede ser bloqueadas por la administración previa del antagonista al receptor  $GABA_A$ , la picrotoxina.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Procedimientos Generales**

#### **Sujetos experimentales**

Se utilizaron 153 ratas hembras de la cepa Wistar de tres meses de edad, con peso de 200 a 250 g al inicio de los experimentos. Las ratas se mantuvieron en un bioterio (9 animales por caja) con un ciclo de luz oscuridad de 12 x 12 h (la luz se encendió a las 7:00 a.m.), con libre acceso al agua y al alimento. Para evitar las influencias hormonales típicas del ciclo estral de la rata sobre la respuesta conductual en la prueba de nado forzado y sobre la actividad neuronal del núcleo septal lateral (Contreras et al., 2000), todas las ratas fueron ovariectomizadas y asignadas aleatoriamente a cada uno de los grupos experimentales.

#### **Manipulación quirúrgica**

##### **Ovariectomía**

Las ratas fueron anestesiadas con éter etílico (J.T. Baker) y se les rasuró la parte ventral del cuerpo donde se les realizó una incisión longitudinal en la piel y el músculo. Posteriormente, mediante una pinza, se extrajeron ambos oviductos junto con los ovarios. Una vez localizados se procedió a ligar, por separado cada uno de ellos fueron seccionados. Después de esta maniobra se limpió la herida con solución salina y benzal. Finalmente, se suturó el músculo y la piel. Después de dos semanas de haber realizado la ovariectomía, los animales fueron asignados aleatoriamente a alguno de los grupos estudiados.

## **PRUEBAS CONDUCTUALES**

### **Campo abierto**

Dado que la actividad motora de los animales puede influir sobre la inmovilidad en la prueba de nado forzado (Wieland and Lucki, 1990), justo antes de que los animales fueran sometidos al nado forzado, se evaluó su actividad motora en la prueba de campo abierto. Los animales fueron colocados individualmente durante 5 min en una caja de acrílico (44 x 33 x 20 cm) con el piso dividido en cuadrantes de 11 x 11 cm. En esta prueba se cuantificó el número de cuadros por los que el animal deambuló durante los 5 min de prueba. Se consideró como cruce cuando el animal pasó de un cuadro a otro incluyendo sus extremidades posteriores. Una vez finalizada la prueba de actividad locomotora los animales fueron inmediatamente sometidos a la prueba de nado forzado.

### **Prueba de nado forzado**

La prueba de nado forzado es un modelo experimental útil para evaluar la potencia de los fármacos antidepressivos (Porsolt et al., 1977, 1978). Esta prueba consistió en colocar a una rata en un estanque rectangular de 50 x 44 cm de base y 60 cm de altura, con agua a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  a una altura de entre 21 y 23 cm, dependiendo de la longitud del animal. En una primera sesión (preprueba) el animal permaneció durante 15 min en el estanque, en la cual el animal desarrolla un estado de desesperanza caracterizado por la presencia de inmovilidad. Veinticuatro horas después de la sesión de preprueba el animal fue sometido a una sesión de prueba durante 5 min, la cual fue videograbada. Durante este tiempo se cuantificó el tiempo total de inmovilidad, que es la suma de los periodos de inmovilidad que aparecen durante los 5 min; y la latencia al primer periodo de inmovilidad, que es el tiempo transcurrido desde que la rata fue introducida al estanque hasta que presentó el primer periodo de inmovilidad. La inmovilidad es definida como todos aquellos periodos, mayores a 2 segundos, en los que el animal se mantiene a flote realizando los mínimos movimientos, sin desplazamiento, que le permitan mantener la cabeza por arriba del nivel del agua.

Al finalizar la prueba los animales se sacaron del estanque y se colocaron en una caja con viruta, para después ser devueltas al bioterio de estancia. Cabe señalar que la manipulación que se realiza para la prueba de nado forzado no permite que un animal que ya pasó por la prueba, entre en contacto con un animal intacto que apenas va a pasar a la prueba o que pasará en sesiones posteriores. De esta manera se descarta algún efecto acumulativo de estrés producido por la rata que fue estresada en el nado forzado sobre las ratas intactas o previas a ser sometidas a la prueba conductual.

## **ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO**

### **Cirugía estereotáxica**

Los animales fueron anestesiados con etil carbamato (uretano 1 g/kg, i.p.) y se les administró un décimo de la dosis inicial cuando mostraron signos de alertamiento, tales como un incremento de la frecuencia cardíaca, movimientos de vibrisas o parpadeo. La frecuencia cardíaca fue monitoreada por medio de dos electrodos colocados en las extremidades anteriores, los cuales estuvieron conectados a un polígrafo (Grass 7P5111, con filtros de frecuencia: bajas 30Hz; altas 1 KHz), lo cual permitió detectar cambios en la frecuencia cardíaca del animal.

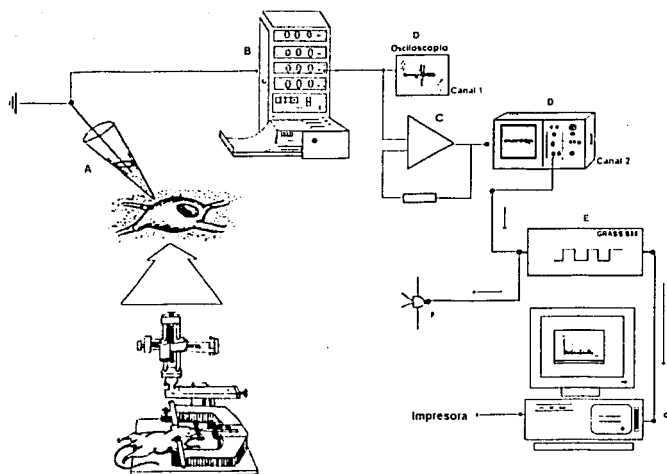
Los animales ya anestesiados fueron colocados en un aparato estereotáxico (Stoelting, Wood Dale, IL, USA). Se realizó un corte sagital sobre la piel en la parte superior de la cabeza y se retiró el periostio para localizar la sutura Bregma. Posteriormente, conforme a las coordenadas estereotáxicas de

Paxinos y Watson (1982) se realizó un trépano a través del cual se descendió la micropipeta para el registro unitario extracelular de las neuronas del núcleo septal lateral en las siguientes coordenadas:  $A_p = 0.2$  mm,  $L = 0.5$  mm,  $H = 3.0$  a  $5.0$  mm. Para la colocación del electrodo se tomó como referencia la sutura bregma y la superficie de la corteza cerebral.

### Registro unitario extracelular

En el trépano correspondiente al núcleo septal lateral se colocó una micropipeta de vidrio llena con una solución conductora de NaCl 1M, con resistencia de 4 a  $5$  M $\Omega$  y un diámetro de la punta de  $1$  a  $2$   $\mu$ M, la cual permitió obtener el registro de la actividad unitaria extracelular de las neuronas del núcleo septal lateral. El descenso de la micropipeta se realizó por medio de un micromanipulador hidráulico (Trent Wells, Inc. So. Gate, California), hacia el núcleo septal lateral comprendido de  $3$  a  $5$  mm por debajo de la superficie de la corteza cerebral.

Para capturar la actividad unitaria extracelular, las ratas fueron colocadas dentro de una caja faradizada. La micropipeta de registro se conectó a un preamplificador (Grass 7P511L con filtros de banda de frecuencia: bajas 300Hz; altas 3 KHz) cuya salida se envió en paralelo a un preamplificador (Grass P51, Quincy, MA., USA) y a un osciloscopio (Tektronix 5111A, Inc Beaverton, OR, USA). Los pulsos generados en el amplificador al ser activado por la señal neuronal se enviaron a un estimulador (Grass S88, Quincy, MA., USA) el cual generó pulsos cuadrados de amplitud y duración constantes ( $0.6$  ms,  $4$  V), que fueron enviados en paralelo a un amplificador de audio y a la entrada serial (RS232) de una computadora personal, IBM, compatible (Figura 5). En la computadora, una serie de programas elaborados *ex profeso* procesaron la actividad unitaria extracelular de las neuronas septales y proporcionaron histogramas de frecuencia de disparo neuronal, su media y el error estándar, así como el coeficiente de variación (definido como el cociente entre la desviación estándar y la media de la frecuencia de disparo), el cual es un indicador de la regularidad del disparo neuronal a lo largo del registro; y el intervalo promedio de disparo de primer orden, que es el tiempo en milisegundos que transcurre entre un disparo neuronal y otro.



**Figura 5.** Registro unitario extracelular. Durante la actividad de una neurona (potencial de acción) incrementa el intercambio iónico generándose un campo eléctrico alrededor de la neurona. La micropipeta (A) detecta estos cambios en el espacio extracelular y por medio de un sistema de amplificación (B y C), estos cambios son monitorizados visual (D) y auditivamente (F). Los potenciales de acción son transformados en impulsos eléctricos de amplitud y duración constantes por medio de un estimulador (E), con los cuales se alimenta a una computadora (G) que por medio de programas especiales digitaliza los impulsos provenientes del estimulador y proporciona los histogramas de frecuencia, la media y el error estándar del disparo neuronal.



## SERIES EXPERIMENTALES

### EXPERIMENTO 1. CURVA DOSIS-RESPUESTA DE LA APLICACIÓN SISTÉMICA DE ALOPREGNANOLONA EN LA PRUEBA DE NADO FORZADO: ACCIÓN ANTIDEPRESIVA.

#### Grupos experimentales

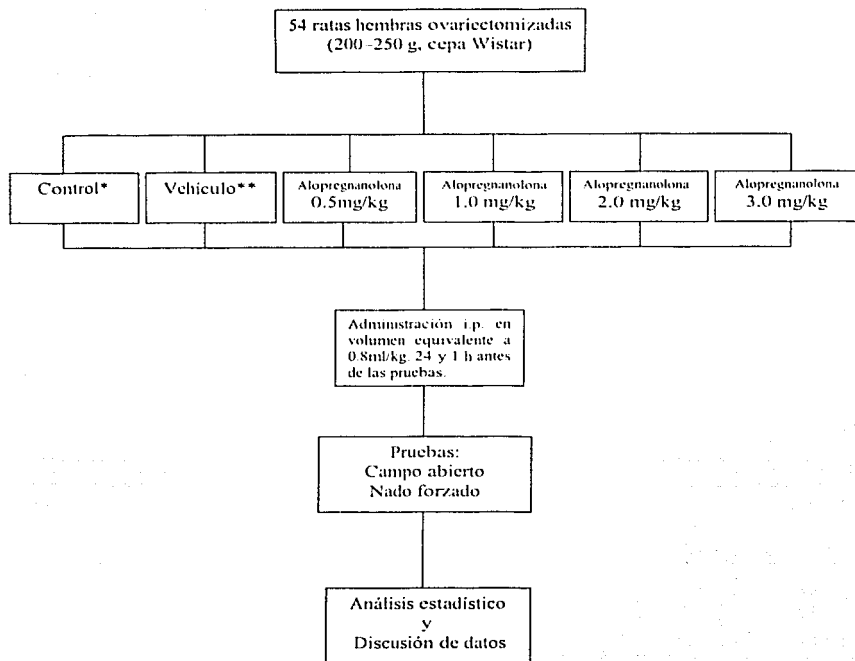
Se utilizaron 54 ratas hembras ovariectomizadas de la cepa Wistar, las cuales fueron asignadas aleatoriamente a cada uno de los grupos estudiados. Se formaron seis grupos independientes de animales ( $n= 9$ ): dos grupos controles, uno sólo recibió agua esterilizada inyectable (Ctrl) y otro el vehículo (Vehic), constituido por una solución de ciclodextrina (Sigma Chemical, St. Louis, USA) al 45 % en agua esterilizada inyectable en donde fue disuelta la alopregnanolona; y otros cuatro grupos de animales recibieron la alopregnanolona en dosis de 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 mg/kg, respectivamente. Los diferentes tratamientos fueron administrados a los animales por vía intraperitoneal (i.p) en un volumen equivalente a 0.8 ml/kg, 24 y 1 h antes de las pruebas conductuales.

#### Análisis estadístico

Los resultados fueron comparados tomando en consideración los diferentes tratamientos. La comparación entre el grupo control y el grupo vehículo se realizó por medio de la prueba t-Student. La comparación de las diferentes dosis de alopregnanolona contra su grupo vehículo fue mediante el análisis de varianza de una vía para grupos independientes (ANOVA de una vía) y como prueba *post hoc* la de Dunnett cuando se alcanzaron valores de  $p \leq 0.05$ . Los resultados se presentan como la media  $\pm$  el error estándar.

## DIAGRAMA DE TRABAJO

(n= 9 cada grupo)



\* Agua esterilizada inyectable.

\*\* Vehiculo, constituido por una solución de ciclodextrina al 45% en agua esterilizada inyectable.

## RESULTADOS

### Prueba de campo abierto

#### Número de cuadros cruzados

En la prueba de campo abierto no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ , t-Student test) en el número de cuadros cruzados por los animales del grupo Control y por los animales del grupo tratado con el Vehículo (Figura 6), por tal motivo sólo se comparó el efecto de las diferentes dosis de alopregnanolona contra el grupo Vehículo.

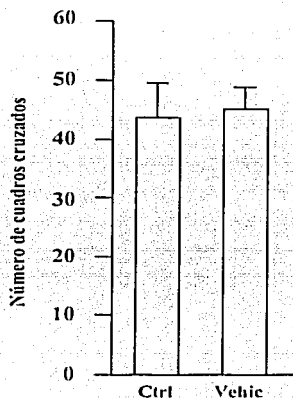


Figura 6. Actividad locomotora en campo abierto: número de cuadros cruzados. No se encontraron diferencias significativas en el número de cuadros cruzados por los animales del grupo control (Ctrl) y del grupo vehículo (Vehic.), t-Student, NS.

El análisis del número de cuadros cruzados en la prueba de campo abierto no reveló diferencias significativas entre los animales tratados con la alopregnanolona [ $F(4,40) = 2.13, NS$ ] respecto al grupo vehículo (Figura 7). A pesar de que el número de cuadros cruzados por los animales tratados con las diferentes dosis de alopregnanolona fue menor que en el grupo Vehículo, no alcanzó la significancia estadística.

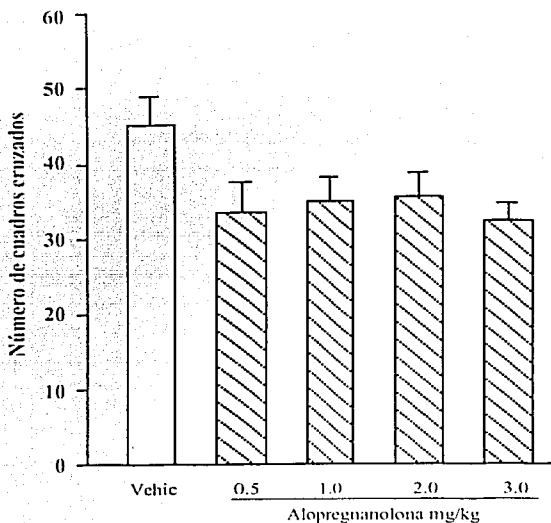
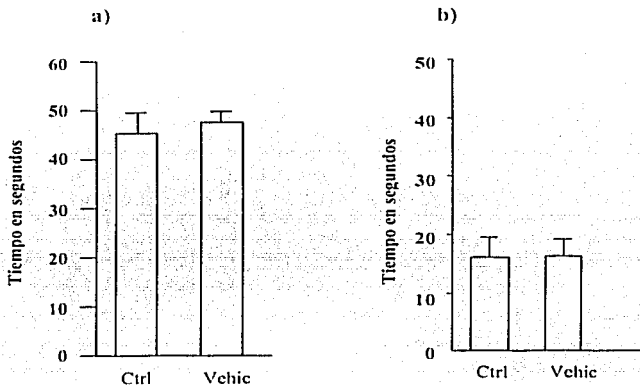


Figura 7. Actividad locomotora en campo abierto: número de cuadros cruzados. Durante los 5 minutos de prueba no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los grupos experimentales. Vehic, grupo vehículo. ANOVA de una vía para grupos independientes.

## Nado forzado

En la prueba de nado forzado no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ , *t*-Student test) en el tiempo total de inmovilidad (Control:  $45.4 \pm 4.2$  seg, Vehículo:  $45.5 \pm 2.4$  seg) ni en la latencia al primer periodo de inmovilidad (Control:  $16.0 \pm 3.6$  seg, Vehículo:  $16.2 \pm 2.9$  seg) de los animales del grupo control y los animales del grupo vehículo (Figura 8), por lo que solo se comparó el efecto de las diferentes dosis de alopregnanolona contra el grupo Vehículo en las variables antes mencionadas.



**Figura 8. Prueba de nado forzado.** No se encontraron diferencias significativas en el tiempo total de inmovilidad (a), ni en la latencia al primer periodo de inmovilidad (b) de los animales del grupo control (Ctrl) y vehículo (Vehic); *t*-Student, NS.

El tratamiento con alopregnanolona disminuyó de manera dosis dependiente el tiempo total de inmovilidad [ $F(4,40) = 16.0$ ,  $p = 0.0001$ ], encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) a partir de la dosis de 1.0 mg/kg con respecto al grupo Vehículo y no se encontraron diferencias significativas entre las dosis de 1.0 y 2.0 mg/kg; sin embargo, si hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en las dosis de 1.0 y 2.0 mg/kg con respecto a la dosis de 3.0 mg/kg de alopregnanolona (Figura 9).

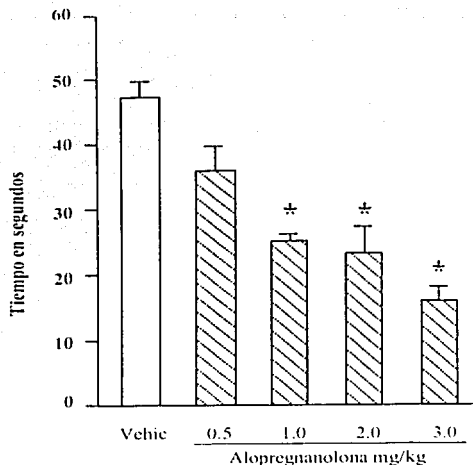


Figura 9. Nado forzado: tiempo total de inmovilidad. El tratamiento con alopregnanolona redujo de manera dosis dependiente el tiempo total de inmovilidad y fue significativo a partir de la dosis de 1.0 mg/kg con respecto al grupo Vehic; \*  $p < 0.05$  vs Vehic. ANOVA de una vía para grupos independientes, *post hoc* Dunnett.

El análisis de la latencia al primer periodo de inmovilidad reveló diferencias significativas asociadas al tratamiento [ $F(4,40) = 5.22$ ,  $p = 0.001$ ], se observó un incremento gradual de la latencia, que a partir de la dosis de 2.0 mg/kg fue significativa con respecto al grupo vehículo (Figura 10).

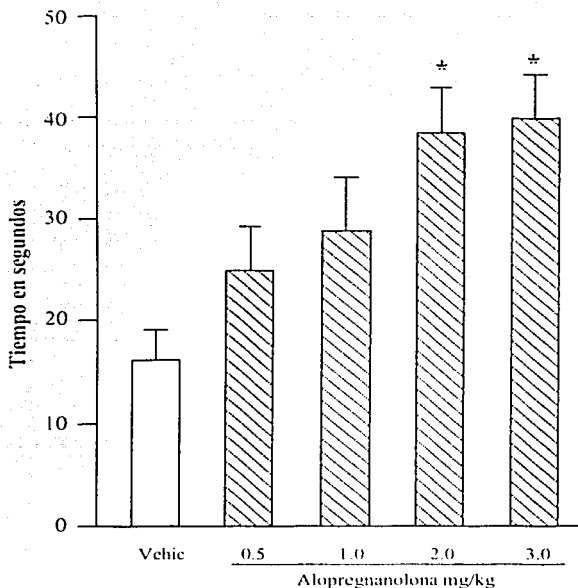


Figura 10. Nado forzado: Latencia al primer periodo de inmovilidad. El tratamiento con alopregnanolona incremento de manera dosis dependiente la latencia al primer periodo de inmovilidad y fue significativo a partir de la dosis de 2.0 mg/kg. \*  $p < 0.05$  vs Vehic. ANOVA de una vía para grupos independientes, *post hoc* Dunnett.

## DISCUSIÓN

Los principales hallazgos de este experimento pueden resumirse de la siguiente manera: a) La administración intraperitoneal de alopregnanolona redujo de manera dosis-dependiente el tiempo total de inmovilidad e incrementó la latencia al primer periodo de inmovilidad. b) La dosis de 1.0 mg/kg fue la mínima efectiva para reducir el tiempo total de inmovilidad y la dosis de 2.0 mg/kg fue la que incrementó la latencia al primer periodo de inmovilidad. Nuestros datos concuerdan con el reporte de Khisti y colaboradores (2000) de que el neuroesteroide alopregnanolona posee un perfil farmacológico semejante al de los antidepresivos convencionales en la prueba de nado forzado.

### **Acciones anti-inmovilidad de la alopregnanolona en la prueba de nado forzado**

La ansiedad y la depresión son dos entidades patológicas estrechamente relacionadas con los cambios hormonales en el género femenino, por tal motivo se les ha relacionado con la regulación del componente emocional y motivacional. Por ejemplo, durante el síndrome premenstrual o el climaterio, el grado de ansiedad y depresión se relaciona con bajos niveles circulantes de estradiol, progesterona y su metabolito, la alopregnanolona (Halbreich et al., 1986; Pearlestein, 1995; Rapkin et al., 1997; Bicikoba et al., 1998). Así mismo, la alopregnanolona participa en algunas de las manifestaciones de la ansiedad y de la depresión que se observan durante el síndrome premenstrual (Straneva et al., 1999). A su vez, la depresión postparto se detecta en mujeres que tuvieron niveles anormalmente elevados de progesterona durante la gestación, sugiriendo un posible síndrome de abstinencia a dicha hormona y además se encuentran concentraciones reducidas de alopregnanolona a nivel plasmático (Harris et al., 1994; Nappi et al., 2001).

La aplicación sistémica de progesterona (Martínez-Mota et al., 1999) o *in situ* en el núcleo septal lateral de la rata (Estrada-Camarena et al., 2002) ejerce acciones tipo-antidepresivo en la prueba de nado forzado y, este efecto es bloqueado por la administración previa de picrotoxina, un antagonista de los receptores GABA<sub>A</sub> (Estrada-Camarena et al., 2002), sugiriendo la participación de esos receptores en las acciones de la progesterona. De igual manera la administración de alopregnanolona en el ratón reduce los parámetros conductuales sugerentes de un estado de desesperanza, mediados por los receptores GABA<sub>A</sub> (Khisti et al., 2000). Aunque las acciones ejercidas por las hormonas esteroides no son del todo conocidas, hay evidencias de que se establecen sobre diversos sistemas de neurotransmisión en estructuras cerebrales en las que los antidepresivos y/o ansiolíticos ejercen algunas de sus acciones. Además, diversos estudios sugieren que la alopregnanolona junto con otros



neuroesteroides participa en la manifestación de algunas alteraciones neuropsiquiátricas como la ansiedad, la epilepsia, la disfunción cognitiva, la catalepsia y la depresión (Uzunov et al., 1998).

La acción antidepresiva de diversas sustancias puede ser detectada mediante el uso de modelos animales, entre ellos la prueba de nado forzado (Porsolt et al., 1977). Esta prueba, representa un estímulo estresante aversivo del cual el animal no puede escapar y desarrolla consecuentemente un estado de desesperanza caracterizado por el aumento de la inmovilidad (Porsolt et al., 1977, Borsini y Meli, 1988). La administración de una amplia gama de fármacos antidepresivos clínicamente eficaces (Porsolt et al., 1977, 1978) o la administración de progesterona en ratas (Martínez-Mota et al., 1999; Estrada-Camarena et al., 2002) o de alopregnanolona en el ratón (Khisti et al., 2000), reduce la inmovilidad de los animales forzados a nadar, sugiriendo un posible efecto antidepresivo. En el presente estudio, utilizando a la rata como sujeto experimental, demostramos también que la administración sistémica de diferentes dosis de alopregnanolona reduce el tiempo total de inmovilidad, además de incrementar significativamente la latencia al primer periodo de inmovilidad de manera dosis-dependiente.

La inmovilidad en la prueba de nado forzado es considerada como un indicador de desesperanza y del grado de motivación que el animal tiene para enfrentar la situación de apremio que representa el nado forzado y esta inmovilidad es reducida por la administración de diversos antidepresivos efectivos clínicamente (Porsolt et al., 1977; Wieland y Lucki, 1990; para revisión véase apéndice III). Por otro lado, la latencia al primer periodo de inmovilidad es considerada como un indicador del primer esfuerzo que el animal realiza para escapar de la situación estresante a la que se le somete (Contreras et al., 1998, 2001; Espejo y Miñano, 1999). En nuestro estudio, encontramos que las dosis de 1.0, 2.0 y 3.0 mg/kg de alopregnanolona aplicadas 24 h y 1 h antes de prueba conductual, disminuyeron el tiempo total de inmovilidad y las dosis de 2.0 y 3.0 mg/kg incrementaron significativamente la latencia al primer periodo de inmovilidad. Así, la disminución de la inmovilidad y el incremento de la latencia al primer periodo de inmovilidad, sugieren que la alopregnanolona incrementó la motivación del animal para tratar de encontrar una salida a la situación apremiante, una acción típica de los antidepresivos y algunas hormonas como ya se ha reportado en otros estudios (Contreras et al., 2000, 2001).

Un incremento de la actividad locomotora puede enmascarar el efecto motivacional producido por los antidepresivos, como ocurre con los estimulantes del SNC (Porsolt et al., 1977; Wieland y Lucki, 1990). En nuestro estudio, la reducción de la inmovilidad no estuvo relacionada con algún efecto motor producido por el neuroesteroide, puesto que en la prueba de campo abierto no se observaron cambios en el número de cuadros cruzados por las ratas durante los 5 min de prueba, lo cual

es consistente con reportes en los que la reducción de la inmovilidad producida por los antidepresivos, la progesterona o la alopregnanolona no se asocia con cambios en la actividad motora del animal (Wieland and Lucki, 1990; Martínez-Mota et al., 1999; Khisti et al., 2000; Estrada-Camarena et al., 2002), sino con un posible efecto motivacional producido por el tratamiento farmacológico en estudio. Debido a lo anterior, la disminución de la inmovilidad que observamos en la prueba de nado forzado, puede ser atribuida a aspectos motivacionales y no a un incremento de la actividad locomotora general del animal, como ocurre con los estimulantes del sistema nervioso central. Estas sustancias disminuyen el tiempo total de inmovilidad pero como una consecuencia de la estimulación motora general del animal en la prueba de campo abierto (Porsolt et al., 1977; Wieland y Lucki, 1990). De esta manera, el efecto en la prueba de nado forzado producido por los estimulantes del sistema nervioso central se relaciona con componentes motores y no con aspectos motivados de la conducta (Wieland y Lucki, 1990).

En comparación con otros estudios que utilizan un estanque cilíndrico para evaluar el efecto de los fármacos antidepresivos (Borsini y Meli, 1988; Porsolt et al., 1978), las ratas estudiadas en el presente trabajo tuvieron bajos niveles de inmovilidad al utilizar un estanque rectangular (50x30x60cm). Dado que el tamaño del estanque puede producir diferencias en los niveles de inmovilidad (Borsini y Meli, 1988; Sunal et al., 1994), es posible que esas diferencias en el tamaño y forma del estanque sean la causa de los bajos niveles de inmovilidad encontrada en nuestro estudio. Es importante señalar que en otros estudios donde se utilizaron condiciones similares del estanque de prueba (Contreras et al., 2001; Molina-Hernández y Téllez-Alcántara, 2001; Estrada-Camarena et al., 2002) se reportan valores de inmovilidad similares a los encontrados en la presente investigación. Adicionalmente, las características del estanque que utilizamos permitieron evaluar la latencia al primer periodo de inmovilidad, además del tiempo total de inmovilidad, lo cual permitió tener un parámetro más del incremento de la motivación del animal bajo el tratamiento con la alopregnanolona.

La participación del GABA en las acciones de los neuroesteroides y en el trastorno depresivo ya ha sido documentada en el ser humano. En pacientes deprimidos ocurre una disminución de los niveles plasmáticos y cefalorraquídeos del GABA (Germer y Hare 1981; Gold et al., 1980), así como de la enzima glutamato descarboxilasa (Kaiya et al., 1982). En tanto que la administración de antidepresivos convencionales, como la fluoxetina, aumenta el número de receptores a GABA en el cerebro de ratas. Particularmente, en el hipocampo aumenta el flujo de GABA<sub>A</sub> (Pile y Loyd, 1984) después del tratamiento con antidepresivos. En este sentido, el neuroesteroide alopregnanolona es un potente modulador alostérico del receptor GABA (Paul y Purdy, 1992); entonces, la posible participación del

sistema GABAérgico en la acción tipo antidepressivo de la alopregnanolona encontrada en la prueba de nado forzado no puede ser descartada (Khisti et al., 2000), debido a que la progesterona y sus metabolitos  $\alpha$ -reducidos ejercen sus acciones sobre el complejo de receptores GABA/benzodiazepinas/Cl<sup>-</sup> (Paul y Purdy, 1992).

El mecanismo a través del cual la alopregnanolona ejerce acciones similares a los antidepressivos sobre el receptor GABA<sub>A</sub> es desconocido; sin embargo, existe una relación estrecha entre la depresión y la disfunción de la actividad del receptor GABA<sub>A</sub>. Los antidepressivos por su parte, contribuyen a reestablecer la neurotransmisión mediada por dichos receptores, lo que da lugar a la normalización de los niveles de GABA y a la disminución de los síntomas de depresión (Petty, 1995). Así, los metabolitos de la progesterona, entre ellos la alopregnanolona, pueden alterar la respuesta fisiológica al GABA actuando directamente sobre el canal iónico, al incrementar la frecuencia de apertura del canal de Cl<sup>-</sup> (Majewska et al., 1986; Mc Ewen, 1991) y por lo tanto el flujo del Cl<sup>-</sup> a través del canal iónico. Considerando que los agonistas GABAérgicos con acciones antidepressivas incrementan la actividad del receptor GABA<sub>A</sub> y que la progesterona y sus metabolitos actúan de manera similar sobre este receptor, es posible que el efecto antidepressivo de la administración sistémica de alopregnanolona observada en nuestro estudio, involucre acciones sobre el receptor GABA<sub>A</sub>. De hecho, en el receptor GABA<sub>A</sub> se ha reportado la presencia de un sitio de reconocimiento para neuroesteroides y se propone que es a través de la activación de este sitio que la progesterona o sus metabolitos regulan las acciones conductuales sugerentes de ansiólisis o actividad antidepressiva en animales de experimentación (Majewska, 1992).

Una observación adicional, consistente en el hecho de que la administración del ansiolítico alprazolam que es un agonista del receptor GABA<sub>A</sub>, disminuye el tiempo de inmovilidad de los animales sometidos a la prueba de nado forzado, de manera similar a los fármacos antidepressivos, incluso potencia la acción anti-inmovilidad de la desmetilimipramina cuando es administrado antes de la sesión que induce la desesperanza conductual en el modelo de nado forzado, lo que sugiere alguna relación entre un proceso ansiolítico y el efecto protector contra la desesperanza. En adición, la progesterona y la DHEA ejercen acciones anti-inmovilidad en la prueba de nado forzado (Martínez-Mota et al., 1999; Prasad et al., 1997), así como acciones ansiolíticas en el laberinto de brazos elevados y en la prueba de enterramiento defensivo (Bitran et al., 1991; Picazo y Fernández-Guasti, 1995, entre otros). Recientemente, Prasad y colaboradores (1997) propusieron que la dehidroepiandrosterona decrecienta la desesperanza conductual durante el nado forzado en animales que tienen altos índices de ansiedad. Por lo tanto, es posible que la acción antidepressiva de algunos agonistas GABA<sub>A</sub> se manifieste cuando los síntomas de la depresión coexisten con síntomas de ansiedad, de tal forma que si

el fármaco disminuye el estado ansioso a través de la activación del sistema GABAérgico, podría influir para que no se manifiesten los síntomas de la depresión.

Al respecto, la administración de alopregnanolona produce efectos ansiolíticos en modelos animales ampliamente utilizados para evaluar la ansiedad experimental (Picazo y Fernández-Guasti, 1995; Fernández-Guasti y Picazo, 1999), los cuales al parecer son mediados por acciones sobre los receptores GABA<sub>A</sub>. Por lo anterior, es posible que la acción antidepresiva en nuestro estudio (reducción de la inmovilidad en la prueba de nado forzado) pudiera deberse en parte a un efecto ansiolítico o protector de la alopregnanolona que no permitió desarrollar el estado de desesperanza en la prueba de nado forzado, lo cual podría ser apoyado por las acciones antiestrés reportadas para la alopregnanolona (Morrow et al., 1995; Zimmerberg and Blaskey 1998). En este sentido, cabe señalar que los fármacos que ejercen sus acciones sobre el sistema GABAérgico, como el muscimol y otras drogas que estimulan la función GABAérgica reducen la inmovilidad en la prueba de nado forzado, evidenciando alguna propiedad antidepresiva (Borsini et al., 1986; Fernández-Teurel et al., 1988; Samba et al 1989; Nakagawa et al., 1996), no obstante que sus acciones principales son las ansiolíticas. En consistencia, la ansiedad patológica al cabo del tiempo puede desencadenar cuadros de depresión mayor (Angst et al., 1990; Breslau et al., 1995) y en animales de experimentación el estrés puede llevar al animal a un estado de desesperanza (Contreras et al., 2002, 2003). Si tomamos en consideración las acciones antiestrés de la alopregnanolona, esto podría contribuir a que en los animales sometidos al nado forzado y tratados con alopregnanolona no desarrollaran la desesperanza, por lo tanto los niveles de inmovilidad fueron más bajos comparados con los de los animales del grupo control que no tuvieron el efecto protector de la alopregnanolona y en consecuencia los niveles de inmovilidad fueron elevados.

Por otro lado, el sistema GABAérgico guarda estrecha relación con otros sistemas de neurotransmisión que participan en la regulación de las acciones antidepresivas de los fármacos, como son el noradrenérgico, el dopaminérgico y el serotoninérgico (Evangelista et al., 1987; Lloyd et al., 1989). Estos sistemas de neurotransmisión participan en las acciones de los antidepresivos en la prueba de nado forzado (para revisión véase Rodríguez-Landa y Contreras, 2000). Por ejemplo, el fengabide, un agonista GABAérgico con acciones antidepresivas, incrementa la síntesis y liberación de noradrenalina (Lloyd et al., 1987), lo que indica una interacción entre el GABA y el sistema noradrenérgico, en las acciones antidepresivas de este fármaco (Suzdak y Gianutos, 1995). Además, Evangelista y colaboradores (1987) reportaron que la acción antidepresiva del muscimol es bloqueada cuando se administran antagonistas dopaminérgicos. Al respecto, un estudio reciente demostró que la administración de alopregnanolona promueve la liberación de dopamina en el núcleo accumbens de la

rata (Rouge-Pont et al., 2002), un efecto relacionado con los aspectos motivados de la conducta (Willner et al., 1991), con las acciones de los antidepresivos (Rodríguez-Landa et al., 2001; 2003) y con la reducción de la inmovilidad en la prueba de nado forzado producida por la desmetilimipramina (Cervo y Samanin, 1987; Gutiérrez-García et al., 2003). Tomando en cuenta lo anterior, es probable que la alopregnanolona al promover indirectamente cambios en otros sistemas de neurotransmisión, distintos al GABAérgico, pero que están implicados en las acciones de los antidepresivos, promueva la reducción de la inmovilidad y el incremento de la latencia al primer periodo de inmovilidad encontrados en nuestro estudio.

En resumen, la alopregnanolona reduce el tiempo total de inmovilidad en ratas forzadas a nadar, lo cual coincide con las primeras observaciones de que la alopregnanolona administrada a ratones reduce el tiempo de inmovilidad (Khisti et al., 2000), mostrando un perfil farmacológico semejante al de los fármacos antidepresivos clínicamente eficaces en la prueba de nado forzado. Es probable que la acción tipo antidepresivo observada en el presente estudio se deba en parte a acciones de la alopregnanolona sobre los receptores GABA<sub>A</sub> y que de manera paralela se activen otros sistemas de neurotransmisión en estructuras cerebrales implicadas en la integración de los componentes motivados como son las estructuras del sistema límbico, para posteriormente activar estructuras implicadas en la respuesta motora asociada a un evento motivado para finalmente dar la respuesta conductual en la prueba de nado forzado asociada al tratamiento con la alopregnanolona, una posibilidad que requiere otros estudios específicos.

## **EXPERIMENTO II. EFECTO ANTIDEPRESIVO A LO LARGO DEL TIEMPO PRODUCIDO POR ALOPREGNANOLONA EN LA PRUEBA DE NADO FORZADO: COMPARACIÓN CON LA PROGESTERONA.**

### **Grupos experimentales**

Se utilizaron 27 ratas hembra ovariectomizadas, asignadas aleatoriamente a cada uno de los grupos estudiados. Se formaron tres grupos independientes de animales ( $n=9$ ): un grupo control que recibió el vehículo (CTRL), constituido por una solución de ciclodextrina al 45%; un segundo grupo que recibió 1.0mg/kg de alopregnanolona (ALOP) y un tercer grupo que recibió 1.0mg/kg de progesterona (PROG). Los diferentes tratamientos fueron administrados a los animales 24 y 0.17 h antes de la primera sesión en las pruebas conductuales (campo abierto y nado forzado), por vía i.p en un volumen equivalente a 0.8 ml/kg. El efecto fue evaluado en las pruebas conductuales a las 0.17, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 y 24 h después de la administración del tratamiento respectivo.

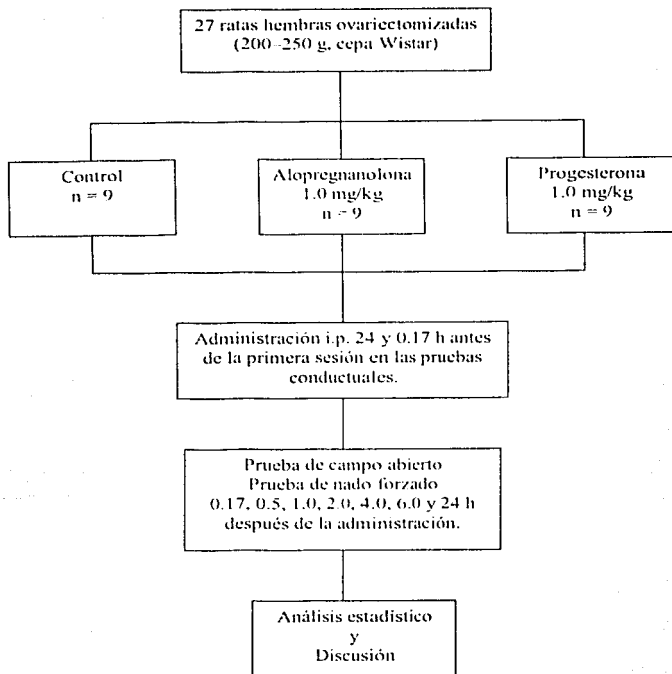
En este experimento en particular, además de evaluar el número de cuadros cruzados en la prueba de campo abierto, se evaluó también el tiempo total de acicalamiento durante los 5 min de prueba.

### **Análisis estadístico**

Los resultados fueron comparados tomando en consideración los diferentes tratamientos y el tiempo transcurrido después de la administración de los tratamientos respectivos. La prueba estadística utilizada fue la ANOVA de dos vías para muestras repetidas y la prueba *post hoc* la de Student-Newman-Keuls. Para el análisis del tiempo que se mantiene el efecto tipo antidepressivo de la alopregnanolona y la progesterona en la prueba de nado forzado se utilizó la prueba estadística de Chi-cuadrada. Los resultados de las variables evaluadas en campo abierto y en nado forzado se presentan como la media  $\pm$  el error estándar. En el caso del tiempo que se mantiene la acción antidepressiva, se presenta como el tiempo en horas, así como el porcentaje del tiempo total de registro.

## DIAGRAMA DE TRABAJO

(n= 9 cada grupo)



## RESULTADOS

### Prueba de campo abierto

#### Número de cuadros cruzados

En la prueba de campo abierto, independientemente del tratamiento, se redujo el número de cuadros cruzados durante los 5 min de prueba. El efecto se observó a partir de la segunda sesión de registro y se mantuvo hasta la cuarta sesión, posteriormente regresó a valores cercanos a los de la primera sesión (Figura 11). El análisis de ANOVA de dos vías reveló diferencias significativas para el tiempo [ $F(6,168) = 28.39, p < 0.0001$ ], sin cambios asociados al tratamiento [ $F(2,168) = 3.5, NS$ ] o a la interacción tratamiento x tiempo [ $F(12,168) = 1.33, NS$ ].

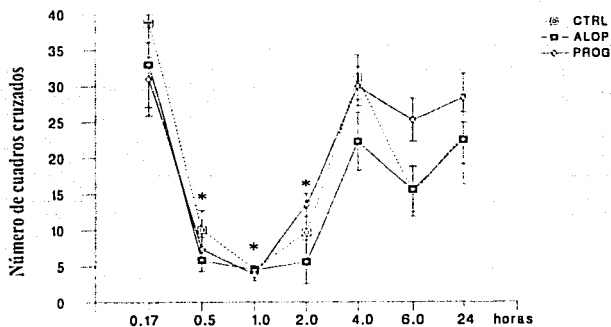


Figura 11. Número de cuadros cruzados. Independientemente del tratamiento, el número de cuadros cruzados se redujo significativamente a las 0.5, 1.0 y 2.0 h de las sesiones de prueba, regresando posteriormente a los valores cercanos observados en la sesión de 0.17 h. CTRL, grupo control; ALOP, grupo tratado con alopregnanolona; PROG, grupo tratado con progesterona. ANOVA de dos vías para muestras repetidas. \*  $p < 0.05$  vs primera, quinta, sexta y séptima sesión de prueba (corresponde a los tres grupos experimentales).



## Acicalamiento

En el grupo control se observó una reducción significativa ( $p < 0.05$ ) en el tiempo total de acicalamiento a partir de la sesión de 0.5 h, la cual se mantuvo durante todas las sesiones siguientes de registro. Esta reducción fue significativa al compararla con la primera sesión del propio grupo y con las sesiones de los grupos alopregnanolona y progesterona a lo largo de las sesiones de registro. En el grupo tratado con alopregnanolona o con progesterona no se observaron cambios significativos en esta variable a lo largo de las sesiones de registro (Figura 12). El análisis del acicalamiento (ANOVA de dos vías) reveló diferencias significativas para el tratamiento [ $F(2,168) = 61.11, p < 0.0001$ ], así como para el tiempo [ $F(6,168) = 2.81, p < 0.01$ ] y no se encontró interacción en tratamiento x tiempo [ $F(12,168) = 1.72, NS$ ].

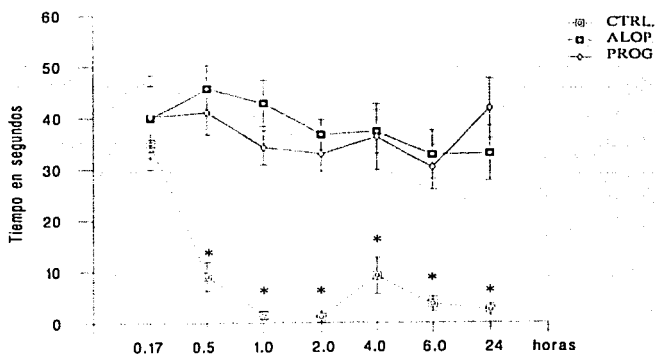


Figura 12. Acicalamiento en campo abierto. El tiempo total de acicalamiento fue reducido significativamente en el grupo control a partir de la segunda sesión de registro, efecto que no se observó en el grupo tratado con alopregnanolona o progesterona. CTRL., grupo control; ALOP, grupo tratado con alopregnanolona; PROG, grupo tratado con progesterona. ANOVA de dos vías para muestras repetidas. \*  $p < 0.05$  vs primera sesión de prueba y contra las sesiones correspondientes del grupo ALOP y PROG.

## Nado forzado

### Tiempo total de inmovilidad

En la prueba de nado forzado la alopregnanolona (1.0mg/kg) y la progesterona (1.0 mg/kg) administradas i.p., disminuyeron el tiempo total de inmovilidad con respecto al grupo control. La reducción de la inmovilidad ejercida por la alopregnanolona se presentó 0.5 h después de la administración y se mantuvo por 1.5 h, con una reducción máxima del 70% a las 0.5 h; mientras que con la progesterona se presentó 1.0 h después de su administración pero se mantuvo por un periodo de 5.0 h, ejerciendo una reducción máxima del 61% a las 2.0 h. Finalmente, en el grupo control no se encontraron diferencias significativas a lo largo del tiempo en esta variable (Figura 13). El análisis de ANOVA de dos vías reveló diferencias significativas para el tratamiento [ $F(2,168) = 8.57, p < 0.003$ ] así como para el tiempo [ $F(6,168) = 12.65, p < 0.0001$ ] y de igual manera para la interacción tratamiento x tiempo [ $F(12,168) = 2.8, p < 0.001$ ]. Del tiempo total de registro (24 h) la progesterona redujo la inmovilidad en un 20.8% y la alopregnanolona en un 6.3 % y el control un 0.0%, estas diferencias en el porcentaje de tiempo de inmovilidad reducida fue estadísticamente significativo ( $p < 0.001$ , Chi-cuadrada).

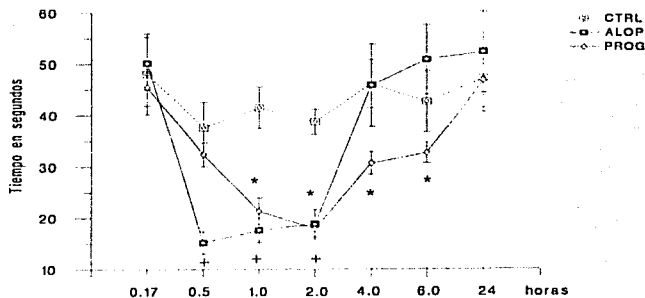


Figura 13. Nado forzado, tiempo total de inmovilidad. La administración de alopregnanolona y progesterona redujo el tiempo total de inmovilidad con respecto al grupo control. La acción de la alopregnanolona se mantuvo por un periodo aproximado de 1.5 h, y la de la progesterona por un periodo de 5 h. CTRL, grupo control; ALOP, grupo tratado con alopregnanolona; PROG, grupo tratado con progesterona. ANOVA de dos vías para muestras repetidas. +  $p < 0.05$  vs CTRL (grupo alopregnanolona), \*  $p < 0.05$  vs CTRL (grupo progesterona).

### Latencia al primer periodo de inmovilidad

En relación a la latencia al primer periodo de inmovilidad, el análisis no reveló diferencias significativas en ninguno de los grupos experimentales a lo largo de las sesiones de nado forzado (Figura 14). El análisis de ANOVA de dos vías no reveló diferencias significativas para el tratamiento [ $F(2,168) = 1.86$ , NS] ni para el tiempo [ $F(6,168) = 1.35$ , NS] y de igual manera para la interacción tratamiento x tiempo [ $F(12,168) = 1.72$ , NS].

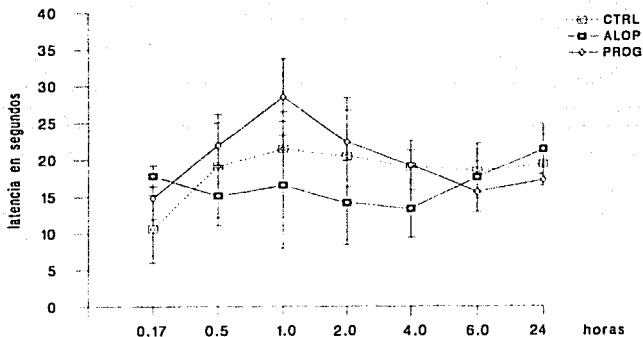


Figura 14. Nado forzado, latencia al primer periodo de inmovilidad. No se encontraron diferencias significativas en la latencia al primer periodo de inmovilidad relacionadas con el tratamiento ni con la sesión de prueba. CTRL, grupo control; ALOP, grupo tratado con alopregnanolona; PROG, grupo tratado con progesterona. ANOVA de dos vías para muestras repetidas (NS).

## DISCUSIÓN

Los principales hallazgos de este segundo experimento pueden ser resumidos de la siguiente manera: a) la administración sistémica de alopregnanolona y progesterona redujeron el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado, b) La acción anti-inmovilidad de la alopregnanolona se observó 0.5 h después de la administración y se mantuvo por un periodo de 1.5 h, c) La acción de la progesterona se presentó 1.0 h después de la administración y se mantuvo por un periodo de 5.0 h, d) la repetición de prueba reduce el número de cuadros cruzados en la prueba de campo abierto, lo cual no interfiere con la respuesta conductual de los animales en la prueba de nado forzado, e) el acicalamiento de los animales control fue reducido a partir de la segunda sesión de prueba en campo abierto, lo cual no se observó en los animales tratados con alopregnanolona o progesterona y f) la acción anti-inmovilidad en la prueba de nado forzado producido por la progesterona se mantiene por un periodo mayor comparado con el de la alopregnanolona. Se concluye que ambos neuroesteroides poseen un perfil farmacológico semejante al de los antidepresivos convencionales, pero que la acción de la progesterona se mantiene por un periodo mayor que el de la alopregnanolona en la prueba de nado forzado.

Los neuroesteroides ejercen sus principales acciones al modificar la funcionalidad del sistema GABAérgico. El GABA se produce a partir del ácido L-glutámico y es considerado uno de los principales neurotransmisores inhibidores del SNC. El reconocimiento del GABA por su receptor puede producir hiperpolarización de las neuronas posinápticas, incrementando consecuentemente el flujo de iones  $Cl^-$  hacia el interior de la célula.

Por su lado, los estrógenos generalmente incrementan la actividad de las monoaminas a través de una influencia combinada sobre la síntesis, el metabolismo y la sensibilidad de los receptores de membrana (Halbreich, 1997), además de inhibir la actividad de la enzima monoaminoxidasa (Chakravorty et al., 1997). Varias de estas acciones sobre el sistema nervioso implican cambios a nivel intracelular y tardan de horas a días en manifestarse. No obstante, se han reportado acciones no genómicas de las hormonas y los neuroesteroides a nivel de receptores de membrana, entre ellos los receptores GABA<sub>A</sub>, cuyas acciones se establecen a corto plazo (McEwen, 1991). En el presente estudio encontramos que tanto la alopregnanolona como la progesterona redujeron el tiempo total de inmovilidad en un tiempo de entre 0.5 y 1.0 h después de la administración respectivamente, aunque la acción de la progesterona se mantuvo por más tiempo con respecto a la alopregnanolona. En este sentido, la progesterona es una hormona que es reducida, por acción de la enzima 5 $\alpha$ -hidroxisteroide deshidrogenasa, a alopregnanolona (Concas et al., 1988), la cual es más potente en sus acciones que la

progesterona misma (Hiemke et al., 1991; van Broekhoven y Verkes, 2002). En adición, algunos estudios muestran que la acción ansiolítica de la progesterona es mediada por la biotransformación a alopregnanolona (Bitran et al., 1995; Rupprecht, 1997). Asimismo, cuando se bloquea la biotransformación de progesterona a alopregnanolona, se cancela la acción antidepressiva en la prueba de nado forzado (Frye y Wolf, 2002). Estas observaciones sugieren que los datos encontrados en nuestro trabajo, podrían obedecer a que la acción de la progesterona se mantuvo por más tiempo, pero con menor intensidad, al tener que ser metabolizada a alopregnanolona; mientras que la alopregnanolona al actuar de manera directa redujo más rápidamente la inmovilidad, pero durante un menor tiempo. Lo anterior es una especulación que requiere de un diseño experimental específico para ser comprobado o refutado.

La progesterona, ejerce acciones antidepressivas en la prueba de nado forzado y en el modelo de suspensión del rabo (Martínez-Mota et al., 1999; Bernardi et al., 1989). En adición, en la rata hembra existe una correlación positiva entre los niveles de progesterona y la capacidad del animal para resolver la situación de apremio que enfrenta, por lo tanto, se ha sugerido que la progesterona se comporta como un ansiolítico y/o antidepressivo endógeno, lo que concuerda con algunos hallazgos clínicos (Contreras et al., 2000). En el mismo sentido, mediante diversos modelos para el estudio experimental de la ansiedad y de la depresión se ha sugerido que esos estados emocionales se modifican de acuerdo a la fase del ciclo estral de la rata (Díaz-Velíz et al., 1991, 1994; Contreras et al., 2000) o del avance de la gestación de los animales (Molina-Hernández y Téllez-Alcántara, 2001); por ejemplo, se observa una reducción de la ansiedad evaluada en la prueba de enterramiento defensivo en el día 14 de gestación en ratas (Pícazo y Fernández-Guasti, 1993) así como acciones semejantes a las ejercidas por el antidepressivo clorimipramina en el modelo de condicionamiento operante (Molina-Hernández et al., 2000), lo cual podría estar relacionado con niveles plasmáticos elevados de progesterona en esas etapas. Además, las ratas que se encuentran en la fase del ciclo estral de proestro y estro, dos de las fases del ciclo estral caracterizadas por niveles elevados de estradiol y progesterona (Freeman, 1988), tienen menos indicadores de desesperanza en la prueba de nado forzado (Contreras et al., 1998). Así mismo, la progesterona aplicada por vía sistémica decremente de manera significativa la duración total de la inmovilidad de manera dosis-dependiente en la misma prueba (Martínez-Mota et al., 1999). Por otro lado, la administración de alopregnanolona a ratones reduce el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado, un efecto antagonizado por la aplicación previa de bicuculina, una antagonista específico del receptor GABA<sub>A</sub> (Khisti et al., 2000).

En nuestro estudio encontramos que la aplicación de progesterona y alopregnanolona redujo el tiempo total de inmovilidad, lo cual es interpretado como un efecto antidepressivo. Es importante señalar que en nuestro estudio la reducción de la inmovilidad en el nado forzado no fue asociada con efectos

estimulantes de la actividad locomotora en campo abierto, incluso observamos que a partir de la segunda sesión en esa prueba (posterior al nado forzado), se redujo el número de cuadros cruzados, un efecto que se mantuvo hasta la cuarta sesión y posteriormente regresó a valores similares a los de la primera sesión. En este sentido, aunque las ratas estuvieron hipoactivas en las sesiones de campo abierto antes mencionadas, no se reflejó en la prueba de nado forzado de los animales tratados con la alopregnanolona o la progesterona, pues a pesar de eso, las ratas redujeron el tiempo total de inmovilidad; es decir, incrementaron el tiempo de nado, lo cual no se observó en los animales control. Con base en esta observación, es posible que en nuestro estudio la hipoactividad en campo abierto durante las sesiones correspondientes a 0.5, 1.0 y 2.0 h pudiera relacionarse con un posible agotamiento físico inducido por las sesiones de nado forzado ejecutadas en intervalos de tiempo relativamente cortos (10, 20 y 50 min, respectivamente), pues en las sesiones correspondientes a las 4.0, 6.0 y 24 h, donde los intervalos entre prueba y prueba fueron mayores (110, 110 y 1070 min, respectivamente) el número de cuadros cruzados retornó a valores próximos a los de sesión inicial. A pesar de que los animales tratados con progesterona y alopregnanolona estuvieron hipoactivos mantuvieron la motivación para enfrentar la situación de estrés cuando fueron forzados a nadar, como es evidente por la reducción del tiempo total de inmovilidad. Mientras que los animales del grupo control al no estar protegidos por los esteroides neuroactivos, además de reflejar ese posible agotamiento, también pudiera estar reflejando la desesperanza inducida en el nado forzado, evidente por el incremento del tiempo total de inmovilidad (Porsolt et al., 1977; Borsini et al., 1989) y la disminución de la conducta de acefalamiento que es considerada como una conducta motivada autodirigida.

Los sujetos sometidos a factores estresantes presentan una reducción de la actividad locomotora en la prueba de campo abierto (Gómez et al., 1989; Wilson et al., 2000), lo cual es dependiente de la duración y de la intensidad del estímulo estresante. La prueba de nado forzado es un estímulo suficientemente estresante para promover cambios neuroquímicos y electrofisiológicos que se relacionan con la desesperanza de los animales forzados a nadar (Porsolt et al., 1991). Este hecho explicaría porque los animales del grupo control redujeron el número de cuadros cruzados durante las sesiones de prueba, pero no explica como es que los animales tratados con alopregnanolona o progesterona también redujeron su actividad motora, lo que señala un posible agotamiento inducido por la prueba de nado forzado. De ser cierta esta aseveración, el "agotamiento físico" de los animales tratados con alopregnanolona y progesterona, solo fue evidente cuando al animal se le expuso a un ambiente donde no se le enfrenta a ningún estímulo aversivo y no requiere de un alertamiento para su sobrevivencia, tal es el caso de la prueba de campo abierto. Sin embargo, cuando a esos animales se les sometió a un ambiente que implicaba un esfuerzo para mantener su integridad física, se encontró motivado para enfrentar la situación de apremio, lo cual lo observamos en la prueba de nado forzado donde estos animales incrementaron el nado y en

consecuencia redujeron el tiempo total de inmovilidad, un efecto que no fue observado en los animales del grupo control, en los que se evidencia su estado de desesperanza por el incremento de la inmovilidad y de la reducción, casi en su totalidad, del acicalamiento.

En este experimento evaluamos el tiempo total de acicalamiento empleado por los animales en la prueba de campo abierto. Encontramos que en la primera sesión de esta prueba (antes de ser sometidos al nado forzado) los tres grupos experimentales tuvieron tiempos similares de acicalamiento. Sin embargo, después de que los animales del grupo control fueron sometidos al nado forzado redujeron casi en su totalidad el tiempo de acicalamiento en la prueba de campo abierto, lo cual se mantuvo hasta el registro de las 24 h. Mientras que los animales del grupo tratado con la alopregnanolona y la progesterona mantuvieron prácticamente los mismos valores de acicalamiento durante todas las sesiones de registro independientemente de haber sido sometidos al nado forzado.

El acicalamiento está relacionado con algunos componentes emocionales y es considerado una conducta de auto aseo. Así, por ejemplo, el acicalamiento se incrementa cuando los animales son sometidos a situaciones de estrés (Egibar y Moyaho, 1997; Moyaho y Valencia, 2002) y los animales ansiosos despliegan un mayor tiempo de acicalamiento (Singh et al., 1996; Murphy et al., 1996; Jaiswal, 2002), lo cual es revertido mediante el tratamiento con fármacos ansiolíticos y/o antidepressivos (Hata et al., 1988; D'Aquila et al., 2000). Sin embargo, el estrés prolongado reduce el acicalamiento de los animales (van Dijken et al., 1992), lo cual posiblemente se relacione con un estado de desesperanza. En nuestro estudio es evidente que el estrés generado por la prueba de campo abierto o por el nado forzado no ejerció un estado de ansiedad en el animal, pues no encontramos altos niveles de acicalamiento como ha sido reportado en los animales ansiosos (Jaiswal, 2002). Esto pone en evidencia que el nado forzado es un factor altamente estresante que rebasa los límites para producir un estado de ansiedad en el animal, sino que lo lleva a un estado de desesperanza donde el animal pierde el interés por mantener su integridad (Porsolt et al., 1977, 1978). Equiparando esta observación con lo que pasa en el ser humano deprimido, ese estado de desesperanza del animal podría representar la falta de motivación del humano deprimido que le impide mantener su integridad física (DSM-IV), lo cual en los animales desesperanzados podría estar reflejado por el incremento de la inmovilidad en el nado forzado y por la disminución del acicalamiento en la prueba de campo abierto. En contraparte, los animales tratados con progesterona y alopregnanolona al estar protegidos contra el estrés conservaron la capacidad de acicalamiento, es decir, conservaron la motivación para realizar esa conducta auto dirigida de aseo, confirmando las acciones ansiolíticas y antiestrés de estas hormonas, lo cual posiblemente esté relacionado también con la acción antidepressiva observada en el presente estudio.

El esquema de administración utilizado en este experimento, 24 y 0.17 h antes de las pruebas conductuales fue seleccionado con base en estudios previos de nuestro grupo de trabajo (Martínez-Mota et

al., 1999). No obstante, en el presente estudio observamos que el efecto de progesterona y alopregnanolona se mantuvo por un período que va de 1.5 h a 5 h, lo cual sugiere que el efecto evaluado pudo deberse solo a la segunda administración de progesterona o alopregnanolona. Considerando esta observación es posible argumentar que la administración efectuada 24 h antes de la prueba fue metabolizada y por lo tanto se evitó una posible impregnación con dichas hormonas. Esta observación puede ser apoyada por el hecho de que una sola administración de alopregnanolona por vía intraperitoneal a ratones, reduce el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado 30 minutos después de la administración (Klusti et al., 2000).

La administración de fármacos ansiolíticos o antidepresivos antes de la sesión de preprueba puede evitar que el animal desarrolle el estado de desesperanza en la prueba de nado forzado, por lo que algunos investigadores recomiendan administrar el fármaco después de haber sometido a los animales a la sesión de preprueba. En nuestro estudio, la primera administración de progesterona y alopregnanolona se realizó 10 minutos antes de la sesión de preprueba, sin embargo, basándonos en los resultados encontrados podemos descartar algún efecto protector, de los esteroides neuroactivos, ante el estrés generado por la preprueba, pues como observamos el efecto tipo antidepresivo de la alopregnanolona se presentó 0.5 h y el de la progesterona 1.0 h después de la administración, lo que sobrepasa los 10 minutos transcurridos desde la administración hasta la sesión de preprueba. Sin embargo, estas observaciones requieren de un diseño experimental específico para refutar o apoyar dicha propuesta.

En resumen, los datos del presente experimento confirman la acción antidepresiva de la alopregnanolona y la progesterona en la prueba de nado forzado y por primera vez se aportan datos de la duración de sus efectos bajo estas condiciones experimentales. El efecto anti-inmovilidad ejercido por la progesterona se observó 1.0 h después de su administración y se mantuvo por un periodo de 5.0 h, ejerciendo una reducción máxima del 61% a las 2.0 h; en tanto que con alopregnanolona apareció a las 0.5 h y se mantuvo por 1.5 h, con una reducción máxima del 70% a las 0.5 h. Del intervalo de tiempo total de registro (24 h) la progesterona redujo la inmovilidad en un 20.8% (5.0 h) y la alopregnanolona en un 6.3% (1.5 h) y el control un 0.0% (0.0 h). De tal manera que concluimos que aunque la alopregnanolona ejerce sus efectos más rápidamente que la progesterona, la acción tipo antidepresivo de la progesterona se mantiene por un periodo mas prolongado. Adicionalmente, concluimos que el nado forzado es un estímulo lo suficientemente estresante para abolir la conducta de acicalamiento en los animales control, lo cual es bloqueado por la administración de los dos esteroides neuroactivos estudiados.



## EXPERIMENTO III. IMPLICACIÓN DEL RECEPTOR GABA<sub>A</sub> EN LA ACCIÓN ANTIDEPRESIVA DE ALOPREGNANOLONA EN LA PRUEBA DE NADO FORZADO.

### Grupos experimentales

Se utilizaron 36 ratas hembras ovariectomizadas de la cepa Wistar asignadas aleatoriamente a cada uno de los grupos estudiados. Se formaron cuatro grupos independientes de ratas ( $n=9$ ). A uno (grupo Vehículo) se le administró el vehículo de la alopregnanolona (solución de ciclodextrina al 45%) más el vehículo de la picrotoxina (agua esterilizada inyectable); a un segundo grupo se le administró el vehículo de la alopregnanolona más 1.0 mg/kg de picrotoxina (grupo Picrotoxina); un tercer grupo recibió 1.0 mg/kg de alopregnanolona más el vehículo de la picrotoxina (grupo Alopregnanolona) y un último grupo recibió 1.0 mg/kg de alopregnanolona más 1.0 mg/kg de picrotoxina (grupo Alopregnanolona + Picrotoxina). El vehículo o la picrotoxina fueron aplicados por vía i.p. en un volumen equivalente a 0.8 ml/kg y administrado media hora antes de la segunda dosis del vehículo de la alopregnanolona o de la alopregnanolona, según fuera el caso. La alopregnanolona o el vehículo se administraron 24 y 1 h antes de las pruebas conductuales.

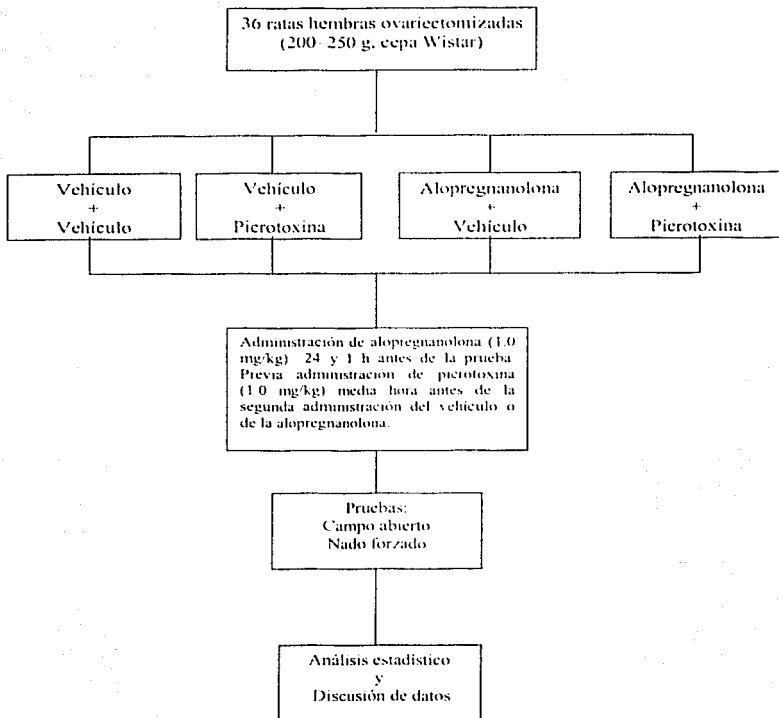
### Análisis estadístico

Los resultados fueron comparados tomando en consideración los diferentes tratamientos. La prueba estadística que se utilizó fue el análisis de varianza de una vía para grupos independientes (ANOVA de una vía) y como prueba *post hoc* la de Dunnett, en el caso de haber alcanzado valores de  $p \leq 0.05$ . Los resultados se presentan como la media  $\pm$  el error estándar.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## DIAGRAMA DE TRABAJO

(n= 9 cada grupo)



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## RESULTADOS

### Campo abierto

#### Número de cuadros cruzados

El análisis estadístico mediante la ANOVA de una vía para grupos independientes no reveló diferencias significativas entre los cuatro grupos experimentales [ $F(3,32) = 0.88$ ,  $p = 0.45$ ], es decir, no se observaron diferencias en el número de cuadros cruzados por las ratas durante los cinco minutos de prueba (Figura 15).

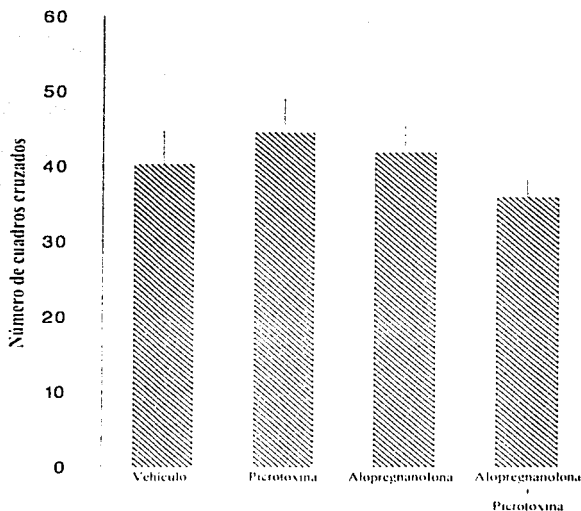


Figura 15. Actividad locomotora en campo abierto: número de cuadros cruzados. No se observaron diferencias significativas en el número de cuadros cruzados entre los diferentes grupos experimentales. ANOVA de una vía para grupos independientes.

## Nado forzado

### Tiempo total de inmovilidad

Al igual que en los experimentos I y II, la administración de 1.0 mg/kg de alopregnanolona redujo significativamente el tiempo total de inmovilidad con respecto al grupo vehículo ( $p < 0.05$ ) y este efecto fue antagonizado por la administración previa de 1.0 mg/kg de picrotoxina (Figura 16), la cual *per se* no modificó el tiempo total de inmovilidad respecto al grupo control.

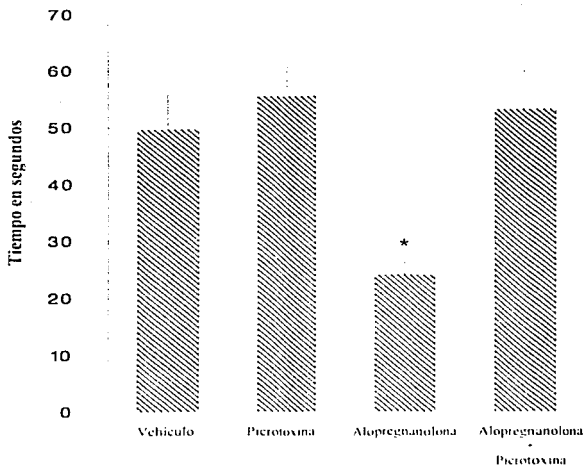


Figura 16. Nado forzado: tiempo total de inmovilidad. El tratamiento con 1.0 mg/kg de alopregnanolona redujo significativamente el tiempo total de inmovilidad con respecto al grupo vehículo y los otros dos grupos experimentales, un efecto que fue bloqueado por la administración previa de 1.0 mg/kg de picrotoxina. \*  $p < 0.05$  vs todos los grupos experimentales. ANOVA de una vía para grupos independientes, *post hoc* Dunnett.

### Latencia al primer periodo de inmovilidad

En cuanto a la latencia al primer periodo de inmovilidad el análisis estadístico no reveló diferencias significativas entre los cuatro grupos experimentales (Figura 17).

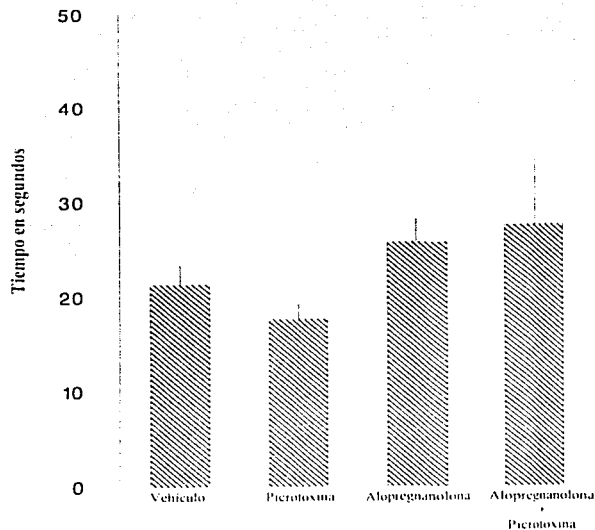


Figura 17. Nado forzado: latencia al primer periodo de inmovilidad. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los grupos experimentales. ANOVA de una vía para grupos independientes (no significativo).

## DISCUSIÓN

Los principales hallazgos de este experimento pueden resumirse de la siguiente manera: a) La administración de 1.0 mg/kg de alopreganolona redujo significativamente el tiempo total de inmovilidad, sin cambios en la actividad locomotora; b) La dosis de 1.0 mg/kg de picrotoxina bloqueó la reducción de la inmovilidad ejercida por la alopreganolona en la prueba de nado forzado, sin provocar cambios en la actividad locomotora en campo abierto. Lo anterior sugiere que el receptor GABA<sub>A</sub> participa en la acción antidepresiva de este neuroesteroide en la prueba de nado forzado.

Las acciones de los neuroesteroides sobre el sistema nervioso central se han descrito sobre receptores de membrana y otras a nivel genómico (McEwen, 1991). Los efectos genómicos de los neuroesteroides involucran receptores intracelulares y los que se establecen por vía no genómica involucran interacciones con receptores membranales como el GABA<sub>A</sub> y los serotoninérgicos, entre otros (Canonaco et al., 1993), localizados en regiones cerebrales involucradas en la regulación de diversas pautas conductuales (Mahesh et al., 1996). Por ejemplo, la unión de progesterona a receptores intracelulares en el hipotálamo facilita la conducta de lordosis (McEwen et al., 1979), la aplicación de progesterona en el septum lateral produce acciones tipo antidepresivo (Estrada-Camarena et al., 2002), la administración intracerebroventricular de alopregnanolona también ejerce acciones antidepresivas (Khisti et al., 2000), al parecer estos efectos se deben a la interacción con los receptores GABA<sub>A</sub>. Adicionalmente, se ha demostrado la acción anestésica, analgésica e hipnótica de la alopregnanolona mediante su interacción con el receptor GABA<sub>A</sub>, ocasionando potenciación de la neurotransmisión GABAérgica (Majewska et al., 1986; Lambert et al., 1995; Baulieu et al., 1996).

La progesterona y sus metabolitos son capaces de modular el complejo del receptor GABA<sub>A</sub> benzodiazepinas/Cl<sup>-</sup> asociado a las concentraciones nanomolares en el ionóforo de Cl<sup>-</sup> (Majewska et al., 1986; Gee et al., 1988; Lambert et al., 1995). En este sentido, al receptor GABA<sub>A</sub> se le denomina también complejo receptor ionóforo de Cl<sup>-</sup> y tiene las siguientes características: 1) es un receptor postsináptico que pertenece a la familia de los canales unidos a iones específicos; 2) está constituido por diferentes subunidades que se encuentran en la membrana plasmática ( $\alpha 1$ - $\alpha 6$ ,  $\beta 1$ - $\beta 3$ ,  $\gamma 1$ - $\gamma 3$  y  $\delta$ ); 3) son canales selectivos al ion Cl<sup>-</sup> (Schmid et al., 1998); 4) tiene al menos tres sitios de reconocimiento, uno para el GABA, otro para las benzodiazepinas y el tercero para los barbitúricos, así estos dos últimos fármacos funcionan como moduladores positivos al aumentar la afinidad del GABA por el receptor (Pasantes et al., 1991); 5) farmacológica y bioquímicamente se han identificado dos tipos de antagonistas, los que se unen específicamente al sitio de reconocimiento del GABA, como la bicuculina y los que se unen al canal e impiden el paso de Cl<sup>-</sup>, como la picrotoxina; así, ambos fármacos son

potentes convulsivantes cuando son administrados por vía sistémica en dosis relativamente altas (Bloom, 1991; Pasantes et al., 1991); 6) recientemente se ha demostrado que los esteroides neuroactivos interactúan en distintos sitios alostéricos del complejo receptor GABA<sub>A</sub> (Schmid et al., 1998); y finalmente, 7) algunos estudios electrofisiológicos han demostrado que altas concentraciones de neuroesteroides pueden actuar directamente sobre el receptor GABA<sub>A</sub> aún en ausencia de GABA (Kokate et al., 1994), por lo que podría suponerse que la interacción de la progesterona y sus metabolitos  $\alpha$ -reducidos con el receptor GABA<sub>A</sub> podría reproducir algunas de las acciones ejercidas específicamente por el GABA.

La progesterona y sus metabolitos ejercen acciones sobre la actividad neuronal que se establecen por medio de receptores específicos y se acepta que existe un sitio de reconocimiento para los metabolitos de la progesterona en el complejo receptor GABA/benzodiazepina/Cl<sup>-</sup> que se encuentra funcionalmente acoplado al receptor GABA<sub>A</sub> (Lan et al., 1990; Lambert et al., 1995; Schmid et al., 1998). Así, la acción neuromoduladora de los neuroesteroides, al parecer está mediada por una acción directa sobre el complejo receptor GABA<sub>A</sub> en un sitio diferente al de las benzodiazepinas y los barbitúricos, o bien, de manera indirecta a través de mecanismos que implican fosforilación (Lambert et al., 1995) y además de participar como moduladores de la función del receptor GABA<sub>A</sub>, proteínas cinasas y fosfatasas (Rupprecht, 1997).

Dado que los metabolitos reducidos de la progesterona parecen modular la excitabilidad en general, se ha propuesto que la progesterona juega un papel de protohormona para este tipo de acciones biológicas (Kubli, 1993). El concepto de protohormona hace referencia a aquellas sustancias presentes en el organismo, es decir, que son secretadas por glándulas endocrinas las cuales tienen poca o ninguna potencia biológica por sí mismas, pero que una vez biotransformadas a compuestos más activos, contribuyen significativamente al efecto biológico total. Fernández-Guasti y Picazo (1995), encontraron que los metabolitos de la progesterona como el pregnandiol y la alopregnanolona poseen acciones ansiolíticas, lo cual sugiere que estos metabolitos son tan o más activos que la misma progesterona; sin embargo, el hecho de que el SNC posea las enzimas capaces de sintetizar a esta hormona, significaría que la progesterona y sus metabolitos reducidos ejercen acciones membranales no genómicas sobre receptores neuronales y gracias a la 5 $\alpha$ -reducción se amplifica el espectro de acción fisiológica de los esteroides, lo que se relaciona con el hecho de que los metabolitos esteroidales son biológicamente activos y tienen funciones membranales específicas (Kubli, 1993).

En nuestro estudio, encontramos que la administración del antagonista del receptor GABA<sub>A</sub>, la picrotoxina, bloqueó la disminución de la inmovilidad ejercida por la dosis de 1.0 mg/kg de

alopregnanolona en la prueba de nado forzado, lo que indica que el efecto antidepressivo de este neuroesteroide está mediado en parte por el complejo de receptores GABA/benzodiazepinas/Cl<sup>-</sup>. Es importante señalar que la dosis utilizada de picrotoxina (1.0 mg/kg) no promovió acciones convulsivantes, dado que en la prueba de campo abierto no se observaron alteraciones de la actividad motora como pudiera ser ataxia, temblor, incoordinación motora ni convulsiones. Por tal motivo, podemos descartar que esta dosis de picrotoxina interfiriera con los patrones motores del animal en la prueba de nado forzado. De igual manera, la administración de picrotoxina *per se* no ejerció cambios en el tiempo total de inmovilidad ni en el patrón de nado de los animales puesto que no se encontraron diferencias significativas respecto al grupo control. De esta manera podemos afirmar que el bloqueo del efecto anti-inmovilidad de la alopregnanolona se debió al antagonismo del receptor en el que la alopregnanolona ejerce sus acciones y no a un efecto motor provocado directamente por la picrotoxina.

La picrotoxina es un fármaco que se une al canal iónico en el receptor GABA<sub>A</sub> e impide el paso del ión Cl<sup>-</sup>, lo cual explica sus acciones como un potente convulsivante cuando es administrado en dosis elevadas por vía sistémica (Bloom, 1991; Pasantes et al., 1991). La dosis que nosotros administramos para antagonizar el efecto de la alopregnanolona fue relativamente baja y no ejerce acciones convulsivantes. En este sentido, si la picrotoxina bloqueó el flujo de Cl<sup>-</sup>, aunque la alopregnanolona fuera reconocida por el receptor GABA<sub>A</sub>, no se dio el efecto activador de dicho receptor y por lo tanto se bloqueó el efecto anti-inmovilidad ejercido por la administración de alopregnanolona. Estos datos sugieren que el efecto tipo antidepressivo de la alopregnanolona es mediado por el sistema GABAérgico, lo cual es consistente con otro estudio en ratones en el que la aplicación de bicuculina, un antagonista selectivo para los receptores GABA<sub>A</sub>, canceló las acciones anti-inmovilidad de la alopregnanolona (Khisti et al., 2000), confirmando que este sistema de neurotransmisión juega un papel importante en la reducción de la inmovilidad en la prueba de nado forzado. Lo anterior pone en evidencia alguna acción antidepressiva de la alopregnanolona semejante a la producida por los antidepressivos convencionales; así, concluimos que las acciones antidepressivas de la alopregnanolona en la prueba de nado forzado pudieran estar mediadas en parte por el receptor GABA<sub>A</sub>.



## EXPERIMENTO IV. EFECTO DE ALOPREGNANOLONA SOBRE LA TASA DE DISPARO DE LAS NEURONAS DEL NÚCLEO SEPTAL LATERAL DE LA RATA: EFECTOS MEDIADOS POR EL RECEPTOR GABA<sub>A</sub>

### Grupos experimentales

Se utilizaron 36 ratas hembras ovariectomizadas de la cepa Wistar asignadas aleatoriamente a cada uno de los grupos estudiados. Se formaron cuatro grupos independientes de ratas ( $n = 9$ ). A un grupo denominado: Vehículo) se le administró el vehículo de la alopregnanolona (solución de ciclodextrina al 45%) mas el vehículo de la picrotoxina (agua esterilizada inyectable); a un segundo grupo se le administró el vehículo de la alopregnanolona más 1.0mg/kg de picrotoxina (grupo denominado: Picrotoxina), un tercer grupo recibió 1.0 mg/kg de alopregnanolona mas el vehículo de la picrotoxina (grupo denominado: Alopregnanolona) y un último grupo recibió 1.0 mg/kg de alopregnanolona mas 1.0 mg/kg de picrotoxina (grupo denominado: Alopregnanolona + Picrotoxina).

El vehículo o la picrotoxina fueron aplicados por vía i.p. en un volumen equivalente a 0.8 ml/kg y fueron administrados media hora antes de la segunda aplicación del vehículo de la alopregnanolona o de la alopregnanolona, según fuera el caso. La alopregnanolona o el vehículo se administraron 24 y 0.5 h antes de realizar el registro unitario extracelular de las neuronas del núcleo septal lateral.

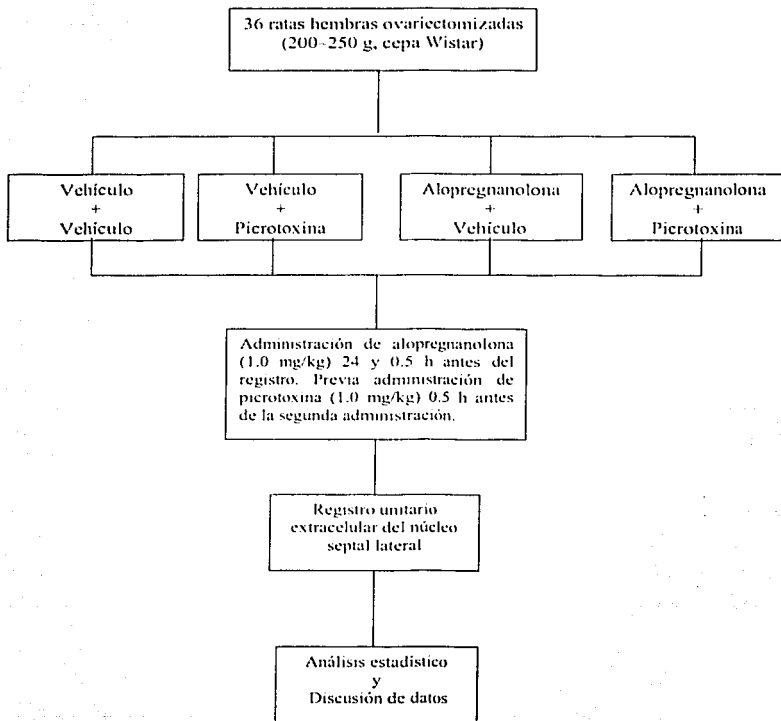
### Análisis estadístico

Los resultados fueron comparados tomando en consideración los diferentes tratamientos. La prueba estadística que se utilizó para el análisis de las variables electrofisiológicas fue el análisis de varianza de una vía para grupos independientes (ANOVA de una vía) y como prueba *post hoc* la de Dunnett, en el caso de alcanzar valores de  $p \leq 0.05$ . El análisis del porcentaje de neuronas que dispararon por arriba de la media del grupo control, se realizó por medio de la prueba de Chi-cuadrada. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  el error estándar.



## DIAGRAMA DE TRABAJO

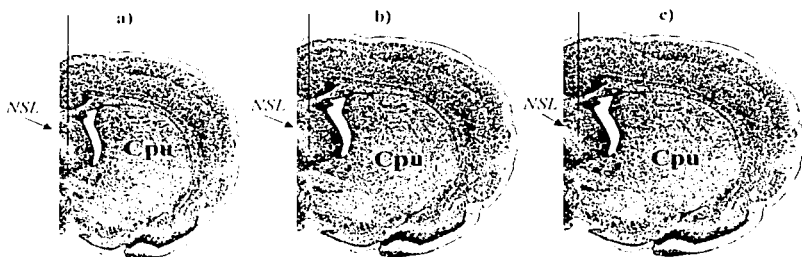
(n= 9 cada grupo)



## RESULTADOS

### Análisis histológico

De este experimento obtuvimos un total de 179 registros unitarios extracelulares espontáneos del núcleo septal lateral (NSL), los cuales se obtuvieron de los aspectos dorsal (3.0-3.5 mm por debajo de la corteza cerebral) e intermedio (3.51-5.0 mm por debajo de la corteza cerebral) y entre los planos correspondientes entre +0.4 mm y -0.3 mm, respecto a la sutura Bregma (Figura 18). Los registros de la actividad espontánea se obtuvieron a una profundidad media de  $3.95 \pm 0.04$  mm a partir de la superficie de la corteza cerebral con una amplitud media de  $92.60 \pm 1.39$  mV. De estos registros, 44 correspondieron al grupo Vehículo, 43 al grupo Picrotoxina, 47 al grupo Alopregnanolona y 45 al grupo Alopregnanolona + Picrotoxina. Debido a que no encontramos diferencias significativas en la tasa de disparo espontánea de las neuronas del aspecto dorsal o intermedio del NSL, los datos se presentan como el total de neuronas registradas en este núcleo para cada grupo experimental. Por cada rata fueron registradas de 4-5 neuronas



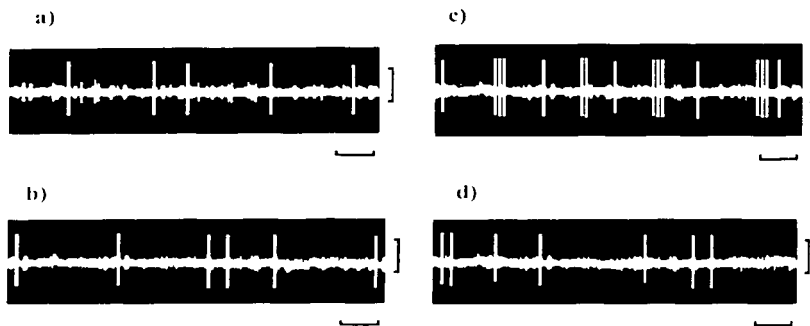
**Figura 18** Reconstrucción histológica del área de registro en el núcleo septal lateral de acuerdo al atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1982). Se muestran tres cortes representativos correspondientes a diferentes planos del núcleo septal lateral, con respecto a la sutura Bregma, de tres sujetos diferentes: a) registros obtenidos en el plano +0.4 mm; b) registros obtenidos en el plano +0.2 mm y c) registros obtenidos en el plano -0.3 mm. Los asteriscos (en color rojo) representan los sitios de registro de la actividad unitaria extracelular del núcleo septal lateral de la rata, la línea representa la trayectoria dejada por la micropipeta de registro.

El análisis estadístico de la amplitud y la profundidad de los registros unitarios extracelulares obtenidos de las neuronas del NSL, no reveló diferencias significativas entre los cuatro grupos experimentales (Tabla 2), lo cual ilustró homogeneidad neuronal en las muestras estudiadas.

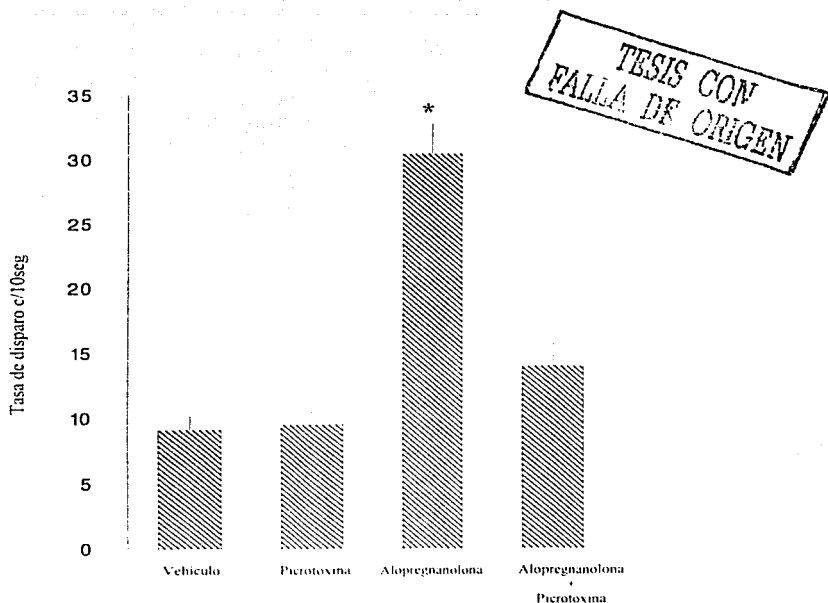
**Tabla 2. Amplitud y profundidad del registro unitario extracelular de las neuronas del núcleo septal lateral de la rata.**

VARIABLE	VEHICULO	PIROTOXINA	ALOPREGNANOLONA	PIROTOXINA + ALOPREGNANOLONA
AMPLITUD DEL DISPARO NEURONAL (mV)	91.5 ± 3.5	91.4 ± 1.3	90.0 ± 2.2	97.6 ± 3.4
PROFUNDIDAD DEL REGISTRO (mm)	3.9 ± 0.1	3.8 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1

El análisis estadístico (ANOVA de una vía) reveló diferencias significativas entre los diferentes tratamientos [ $F(3,178) = 36.4$ ,  $p < 0.0001$ ]. La dosis de 1.0 mg/kg de alopregnanolona incrementó significativamente ( $p < 0.05$ ) la tasa de disparo espontánea de las neuronas del NSL con respecto a los tres grupos experimentales restantes (Figura 19). La picrotoxina en dosis de 1.0 mg/kg no afectó *per se* la tasa de disparo espontánea del NSL. Sin embargo, en esta misma dosis, la picrotoxina fue capaz de antagonizar el efecto de la alopregnanolona sobre la tasa de disparo espontánea de las neuronas del NSL (Figura 20).



**Figura 19.** Trazos representativos tomados del osciloscopio que muestran la actividad unitaria extracelular típica del núcleo septal lateral. a) grupo control, b) grupo picrotoxina, c) grupo alopregnanolona y d) grupo picrotoxina + alopregnanolona. En el grupo alopregnanolona (c) se observa un mayor número de potenciales de acción en comparación con el resto de los grupos experimentales. Calibración: 100 mV, 500 ms.



**Figura 20.** Tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral de la rata. La administración de 1.0 mg/kg de alopregnanolona incrementó significativamente la tasa de disparo espontánea de las neuronas del NSL con respecto a los otros tres grupos experimentales. Dicho efecto fue cancelado por la administración previa de 1.0 mg/kg de picrotoxina. \*  $p < 0.05$  vs los tres grupos experimentales. ANOVA de una vía para grupos independientes.

Del total de neuronas registradas en el grupo Alopregnanolona aproximadamente el 77 % (n= 36) dispararon por arriba de la media  $\pm$  1 desviación estándar de la tasa de disparo de las neuronas del grupo Vehículo; en el grupo Picrotoxina sólo el 18 % (n= 8) y en el grupo Alopregnanolona + Picrotoxina el 35 % (n= 16) de las neuronas sobrepasaron este parámetro. En el grupo Vehículo solo el

9 % (n= 4) de las neuronas registradas sobrepasaron su media  $\pm 1$  desviación estándar (DE). Estas diferencias en los porcentajes de las neuronas que sobrepasaron la media  $\pm 1$  DE del grupo Vehículo fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ , Chi-cuadrada).

En consistencia con la tasa de disparo, el intervalo promedio de disparo neuronal del grupo de animales tratados con alopregnanolona fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) con respecto a los otros tres grupos experimentales. Y no se observaron diferencias significativas en el coeficiente de variación de los cuatro grupos experimentales (Tabla 3).

Tabla 3. Coeficiente de variación e intervalo promedio de disparo de las neuronas registradas en el núcleo septal lateral de la rata.

VARIABLE	CONTROL	PICROTOXINA	ALOPREGNANOLONA	PICROTOXINA + ALOPREGNANOLONA
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)	53.2 $\pm$ 1.5	54.4 $\pm$ 2.0	47.4 $\pm$ 1.7	52.4 $\pm$ 1.2
INTERVALO PROMEDIO DE DISPARO (mseg)	594.6 $\pm$ 27.6	565.7 $\pm$ 24.4	297.2 $\pm$ 19.8 *	499.0 $\pm$ 27.2

No se encontraron diferencias significas en el coeficiente de variación de los diferentes grupos experimentales, pero si en el intervalo promedio de disparo de las neuronas del grupo de animales tratado con alopregnanolona. \*  $p < 0.05$  vs los tres grupos experimentales. ANOVA de una vía para grupos independientes.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## DISCUSIÓN

Los hallazgos de este experimento pueden resumirse de la siguiente manera: a) la administración sistémica de 1.0 mg/kg de alopregnanolona, la cual ejerció acciones antidepresivas en la prueba de nado forzado, incrementó significativamente la tasa de disparo espontánea de las neuronas del núcleo septal lateral y b) la administración previa de picrotoxina (1.0 mg/kg) antagonizó el efecto de la alopregnanolona sobre la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral. Tomando en consideración los datos antes señalados podemos concluir que los efectos de la alopregnanolona sobre la actividad neuronal del núcleo septal lateral son mediados en parte por el receptor GABA<sub>A</sub>.

La integración de las conductas asociadas a las emociones parece llevarse a cabo en estructuras que forman parte del sistema límbico, como el hipotálamo, la amígdala, el hipocampo y el núcleo septal lateral, entre otras. La desesperanza es una de las emociones que caracterizan a la depresión en el ser humano y en algunos modelos animales ha sido utilizada como un indicador del estado motivacional del animal (Porsolt et al., 1977, 1978, para revisión véase apéndice III). En el modelo de nado forzado la conducta de inmovilidad que adopta el animal es considerada como un análogo de la desesperanza en el ser humano, ya que el animal deja de luchar para buscar una solución a la situación apremiante a la que se enfrenta (Porsolt et al., 1977). La participación del núcleo septal lateral en este proceso se ha puesto en evidencia por algunos estudios en animales sometidos a la prueba de nado forzado en los que se ha reportado un incremento de la expresión del gen *c-fos*, una proteína que se activa en respuesta al estrés, en estructuras que conforman el sistema límbico; de estas estructuras el núcleo septal es el que presenta un mayor marcaje (Duncan et al., 1993; Cullinan et al., 1995). En contraste, la expresión del *c-fos* se reduce notablemente cuando se administran fármacos antidepresivos como la imipramina y la desmetilimipramina, a la vez que se reduce la inmovilidad en el nado forzado (Duncan et al., 1993, 1996). Estos trabajos apoyan la hipótesis de que aquellas estructuras límbicas sensibles a la auto-estimulación intracranial y cuya actividad neuronal se incrementa por la administración de diversos fármacos antidepresivos (Contreras et al., 1989, 1990a, 1995, 2001) participan en la regulación de la desesperanza conductual, la cual es reducida por el tratamiento antidepresivo.

La actividad neuronal del núcleo septal lateral está relacionada con aspectos motivados de la conducta (Thomas, 1988; Gogate et al., 1995). En este sentido, la disminución de la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral se asocia con estados emocionales caracterizados por ansiedad y miedo. Así, durante la presencia de un estímulo aversivo la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral disminuye; pero el efecto contrario se observa ante la presencia de un reforzador positivo

(Thomas, 1988; Thomas et al., 1991; Yadin et al., 1993). En consistencia, la tasa de disparo neuronal se incrementa con la aplicación de diversos antidepresivos efectivos clínicamente como la trazodona, la izocarboxazida, la iproniaceda, la clorimipramina, la desmetilimipramina y la fluoxetina (Contreras et al., 1989, 1990a, 1993b, 1995, 2001) y se ha encontrado que este efecto también se observa durante la fase de proestro-estro cuando los niveles de progesterona están más elevados, lo que se relaciona con un incremento de la motivación del animal en la prueba de nado forzado (Contreras et al., 2000). Este dato sugiere que el núcleo septal lateral, entre otras estructuras cerebrales, juega un papel importante en las acciones de los antidepresivos y de las hormonas esteroidales. En efecto, la aplicación *in situ* de progesterona en el núcleo septal lateral reduce la inmovilidad en la prueba de nado forzado, de manera semejante a la administración de desmetilimipramina por la misma vía de administración (Estrada-Camarena et al., 2002).

En nuestro estudio, encontramos que la administración sistémica de 1.0 mg/kg de alopregnanolona, dosis que redujo la inmovilidad en la prueba de nado forzado, incrementó significativamente la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral. Este efecto fue bloqueado por la aplicación previa de picrotoxina (1.0 mg/kg), un antagonista del receptor GABA<sub>A</sub>, señalando la participación de este sistema de neurotransmisión en dichas acciones. Cabe resaltar que el incremento de la tasa de disparo espontánea de las neuronas del núcleo septal lateral de los animales tratados con alopregnanolona no fue producto del azar, debido a que del total de neuronas registradas en este grupo, el 77% de ellas sobrepasó la media  $\pm 1$  desviación estándar (DE) de la tasa de disparo del grupo control. En este sentido, del total de neuronas registradas del grupo control, solo el 9% dispararon por arriba del valor de su media  $\pm 1$  DE, es decir, la probabilidad de que en el grupo tratado con la alopregnanolona se hayan registrado neuronas con estas características es relativamente bajo. Por lo anterior y debido a que en el grupo de animales tratados con alopregnanolona el porcentaje de neuronas que sobrepasaron el valor de la media  $\pm 1$  DE de la tasa de disparo del grupo control fue aproximadamente nueve veces mayor, es factible atribuir dicho incremento al tratamiento con la alopregnanolona y no a que se haya registrado una población distinta de neuronas. El porcentaje de neuronas del grupo tratado con la combinación de alopregnanolona + picrotoxina, también fue aproximadamente tres veces mayor que el del grupo control; sin embargo, no llegó a los valores del grupo tratado únicamente con la alopregnanolona, lo cual revela que la picrotoxina bloquea parcialmente el efecto de la alopregnanolona sobre el número de neuronas del septum lateral que dispararon por arriba de las del grupo control. Tomando en consideración que entre los cuatro grupos experimentales no se encontraron diferencias significativas ni en la profundidad de registro neuronal ni en la amplitud del disparo neuronal podemos decir que se trató de poblaciones neuronales semejantes



en todos los grupos experimentales, por lo que el incremento en la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral de los animales tratados con alopregnanolona puede ser atribuido a un efecto del neuroesteroide y no a que se haya registrado una población neuronal distinta a la del grupo control o los otros grupos experimentales. Además, el porcentaje de neuronas que incrementaron la tasa de disparo con la alopregnanolona es concordante con el encontrado en ratas que fueron tratadas crónicamente con fluoxetina. En un estudio previo encontramos que aproximadamente el 67% de las neuronas de animales tratados con la fluoxetina incrementan su tasa de disparo espontánea con respecto a la media  $\pm$  1 DE de su grupo control (Contreras et al., 2001), lo cual indica que dicho efecto es asociado al tratamiento antidepressivo y no a que se registraran poblaciones neuronales con características distintas de disparo.

El incremento o la disminución de la actividad neuronal pueden ser correlacionados con aspectos de la conducta motivada y con el estado de ánimo del individuo (Yadin y Thomas 1981; Contreras et al., 2000, 2001). Cuando los animales anticipan un evento gratificante -como el acceso al alimento- se incrementa la actividad neuronal del núcleo septal lateral, mientras que al percibir un estímulo aversivo, la tasa de disparo de las neuronas septales disminuye (Yadin y Thomas, 1981), al igual que en los animales forzados a nadar y a los que posteriormente se les registra la actividad neuronal del núcleo septal lateral (Contreras et al., 2001). Luego entonces, los cambios de la actividad neuronal asociados a los tratamientos antidepressivos (Contreras et al., 2001) o a las fluctuaciones de las concentraciones hormonales a lo largo del ciclo estral (Contreras et al., 2000) pudieran estar relacionados con la respuesta conductual de los animales sometidos a pruebas experimentales de ansiedad o depresión, que de alguna manera nos señalan la disminución o el incremento de los indicadores relativos de la desesperanza o la ansiedad experimental.

Esta posibilidad la hemos explorado en estudios previos de nuestro grupo de trabajo tratando de relacionar la respuesta conductual de los animales en la prueba de nado forzado con la actividad neuronal del núcleo septal lateral de la rata bajo tratamiento antidepressivo (véase apéndice V). Así, hemos encontrado que el tratamiento por 21 días con fluoxetina (1.0 mg/kg) o durante la fase de proestro-estro, cuando las concentraciones de las hormonas gonadales se encuentran más elevadas, la tasa de disparo del núcleo septal lateral se encuentra incrementada, en tanto que en la prueba de nado forzado se reducen los parámetros sugerentes de desesperanza (Contreras et al., 2000, 2001). Aunque estos datos han sido obtenidos en grupos independientes de ratas, sugieren la posibilidad de que la tasa de disparo neuronal incrementada del núcleo septal lateral pudiera estar relacionada con el incremento de la motivación de la rata para escapar de la prueba de nado forzado, inferido por la reducción del tiempo total de inmovilidad. En este sentido, en estudios previos de nuestro grupo de trabajo

encontramos que los animales forzados a nadar tienen reducida la tasa de disparo de las neuronas septales (Contreras et al., 2003) y adicionalmente encontramos que en los animales con electrodos implantados crónicamente y sometidos a la prueba de nado forzado ocurre una correlación negativa entre la inmovilidad y la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral, es decir, cuando la rata presenta la inmovilidad, la tasa de disparo septal se reduce y se reestablece cuando la rata reanuda el nado, lo que muestra la participación de este núcleo en la fisiopatología de la desesperanza conductual (Gutiérrez-García et al., datos no publicados).

En el caso de los antidepresivos convencionales, se ha tratado de explicar el incremento de la tasa de disparo del septum lateral de la siguiente manera. El núcleo septal lateral recibe aferencias inhibitorias del núcleo dorsal del rafe, uno de los principales reservorios de serotonina (Dahlstrom y Fuxe, 1964) y la serotonina aplicada *in situ* disminuye la tasa de disparo de las neuronas del rafe dorsal (Segal, 1974; Jöels y Urbans, 1985). Más aún la mayoría de los antidepresivos ejercen sus acciones sobre receptores serotoninérgicos en el núcleo dorsal del rafe. Ocurre una desensibilización gradual de los receptores serotoninérgicos, lo que incrementa las concentraciones extracelulares de serotonina (Rutter y Aureback, 1993). Consecuentemente, la tasa de disparo neuronal del rafe dorsal disminuye y se reduce la liberación de serotonina hacia estructuras del cerebro anterior (Rutter et al., 1995). Así, la estimulación eléctrica del rafe dorsal, incrementa la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral, un efecto facilitado por la clorimipramina (Contreras et al., 1993b). El incremento de la tasa de disparo de las neuronas septales consecutivas al tratamiento antidepresivo probablemente esté relacionado con un incremento de la disponibilidad de serotonina en el rafe dorsal ejerciendo un efecto inhibitorio de sus neuronas, pero produciendo la desinhibición de las neuronas del septum lateral (Contreras et al., 1989, 1990, 2000). Lo cual, en forma paralela, se acompaña de la activación de otros sistemas de neurotransmisión como el dopaminérgico en estructuras del sistema mesolímbico, entre ellas el núcleo accumbens, para darse finalmente la integración y la expresión de la respuesta motora asociada a un evento motivado (Gutiérrez-García et al., 2003; véase apéndice VI).

Ahora bien, el incremento de la tasa de disparo de las neuronas septales asociado al tratamiento con alopregnanolona (presente estudio) podría explicarse de la siguiente manera. Dado que se han encontrado receptores a neuroesteroides en el núcleo septal lateral (MacLusky y McEwen, 1980; Rainbow et al., 1982), es posible asumir que esos receptores pudieran estar mediando el incremento de la tasa de disparo de las neuronas septales provocado por la alopregnanolona. Sin embargo, la progesterona y sus metabolitos  $\alpha$ -reducidos como la pregnanolona y la alopregnanolona tienen la capacidad de modificar las respuestas mediadas por el GABA a través de acciones directas sobre el complejo del receptor GABA/benzodiazepinas/Cl<sup>-</sup> (Majewska et al., 1986; Majewska, 1992; McEwen,

1991). La administración de progesterona a ratas ovariectomizadas incrementa el número de receptores GABA<sub>A</sub> en el hipocampo, mientras que la alopregnanolona incrementa la corriente de los iones de Cl<sup>-</sup> activado por el GABA en la amígdala, el hipocampo y la corteza cerebral (Wilson y Biscardi, 1997). Es importante mencionar que algunos fármacos que activan la transmisión GABAérgica ejercen acciones antidepressivas en algunos modelos animales (Lloyd et al., 1989; Poncelet et al., 1987), incluyendo a la prueba de nado forzado (Borsini et al., 1986; Fernández-Teurel et al., 1988; Sluzewska et al., 1992). En este sentido, el núcleo septal lateral posee receptores GABA<sub>A</sub> (Jakab y Leranth, 1995; Henderson, 1995) y la aplicación *in situ* de progesterona en este núcleo ejerce acciones antidepressivas en la prueba de nado forzado, al parecer a través de acciones sobre el receptor GABA<sub>A</sub> (Estrada-Camarena et al., 2002). En nuestro estudio, el pre-tratamiento con picrotoxina, un bloqueador específico del complejo del receptor GABA benzodiazepinas/Cl<sup>-</sup>, bloqueó el incremento de la tasa de disparo de las neuronas septales producido por la alopregnanolona, al igual que la reducción de la inmovilidad en la prueba de nado forzado (experimento III), por lo que se sugiere que las acciones electrofisiológicas provocadas por este neuroesteroide son mediadas a través del receptor GABA<sub>A</sub>.

No obstante que las acciones de los neuroesteroides, entre ellos la alopregnanolona, se establecen sobre el complejo de receptores GABA/benzodiazepinas/Cl<sup>-</sup> (Lambert et al., 1996), existe una estrecha interacción entre el sistema GABAérgico, el serotoninérgico y el dopaminérgico (Agmon et al., 1996; Karrenman y Moghaddam, 1996; Khisti y Chopde, 2000). Así, por ejemplo, la activación de los receptores GABA<sub>A</sub>, localizados en la corteza prefrontal promueven la inhibición de las neuronas del núcleo dorsal del rafe a través de los receptores postsinápticos 5-HT<sub>1A</sub>, al parecer por el incremento de la serotonina extracelular en esta estructura (Celada et al., 2001). En adición, la estimulación eléctrica de poblaciones de neuronas GABAérgicas de la corteza prefrontal ejerce efectos inhibitorios en neuronas serotoninérgicas del rafe dorsal (Vargas et al., 2001). Asimismo, muchos de los cuerpos celulares serotoninérgicos y dopaminérgicos despliegan inmunoreactividad para los receptores GABAérgicos (Wirtshafter y Sheppard, 2001). De esta manera, si la alopregnanolona está modulando la actividad de los receptores GABA<sub>A</sub> en diversas estructuras cerebrales, es posible que este efecto inhiba la actividad de las neuronas serotoninérgicas del núcleo dorsal del rafe, provocando así el efecto desinhibitorio de las neuronas del septum lateral, evidenciado por el incremento de la tasa de disparo de los animales tratados con la alopregnanolona en el presente estudio.

Dado que la alopregnanolona fue administrada por vía sistémica, no se descarta la participación de otras estructuras cerebrales en las acciones conductuales y electrofisiológicas observadas en el presente estudio. En este sentido, además del núcleo septal, el hipocampo puede mediar las acciones ansiolíticas (Bitran et al., 1999) y antidepressivas de algunos neuroesteroides, entre ellos la

alopregnanolona en la prueba de nado forzado (Frye y Wolf, 2002); además, recientemente se reportó que la alopregnanolona aumenta la liberación de dopamina en el núcleo accumbens de la rata (Rouge-Pont et al., 2002), una estructura relacionada con los aspectos motivados de la conducta y con las acciones de los fármacos antidepresivos (Rodríguez-Landa, 2000; Rodríguez-Landa et al., 2001, 2003). Así, es posible que el incremento de la tasa de disparo del núcleo septal lateral se deba a cambios fisiológicos en otras estructuras cerebrales. Por ejemplo, la administración sistémica de alopregnanolona reduce la tasa de disparo de las células piramidales del hipocampo (Tokunaga et al., 2002), una estructura que posee receptores GABA<sub>A</sub>. En este sentido, una acción inhibitoria sobre las interneuronas hipocámpales puede producir un incremento de la tasa de disparo de las neuronas hipocámpales, lo cual en consecuencia facilita las acciones excitatorias al área septal (Marván et al., 1992). Mas aún, el núcleo septal posee axones colaterales recurrentes, que funcionalmente hablando, actúan como interneuronas (Phelan et al., 1989), las cuales al ser activadas pueden promover efectos desinhibitorios e incrementar la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral (Marván et al., 1992). Por último, la mayoría de las interneuronas poseen receptores a GABA, por lo que posiblemente al inhibir los mecanismos inhibitorios en las neuronas septal o algunas otras estructuras cerebrales, se promueva la desinhibición de la tasa de disparo del septum lateral, como se observó en el presente estudio. Sin embargo, mediante los experimentos realizados en el presente trabajo, no es posible confirmar esta aseveración, por lo que es necesario realizar otros estudios a futuro para apoyar o refutar dicha propuesta.

En resumen, el hecho de que la administración previa de picrotoxina antagonizó el incremento de la tasa de disparo de las neuronas septales provocado por el tratamiento con alopregnanolona sugiere que tales acciones son mediadas a través del receptor GABA<sub>A</sub>; sin embargo, no podemos descartar la participación de otros sistemas de neurotransmisión y otras estructuras cerebrales en dichas acciones.

## CONCLUSION GENERAL.

Los datos encontrados en esta serie de experimentos muestran que la alopregnanolona posee un perfil farmacológico semejante al de los fármacos antidepresivos clínicamente eficaces, a nivel conductual y electrofisiológico, es decir, reduce el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado, sin cambios en la actividad motora en campo abierto e incrementa la tasa de disparo espontánea de las neuronas del núcleo septal lateral; lo cual al parecer es mediado, en parte, a través del complejo de receptores GABA<sub>A</sub>.

Concluimos que el incremento de la tasa de disparo espontánea de las neuronas del núcleo septal lateral podría estar relacionado con la reducción de la inmovilidad en la prueba de nado forzado ejercida por el tratamiento con el neuroesteroide alopregnanolona, y por lo tanto, con un posible efecto antidepresivo a nivel experimental mediado probablemente a través del receptor GABA<sub>A</sub> y otros sistemas de neurotransmisión (Figura 21).

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

MODELO TEÓRICO

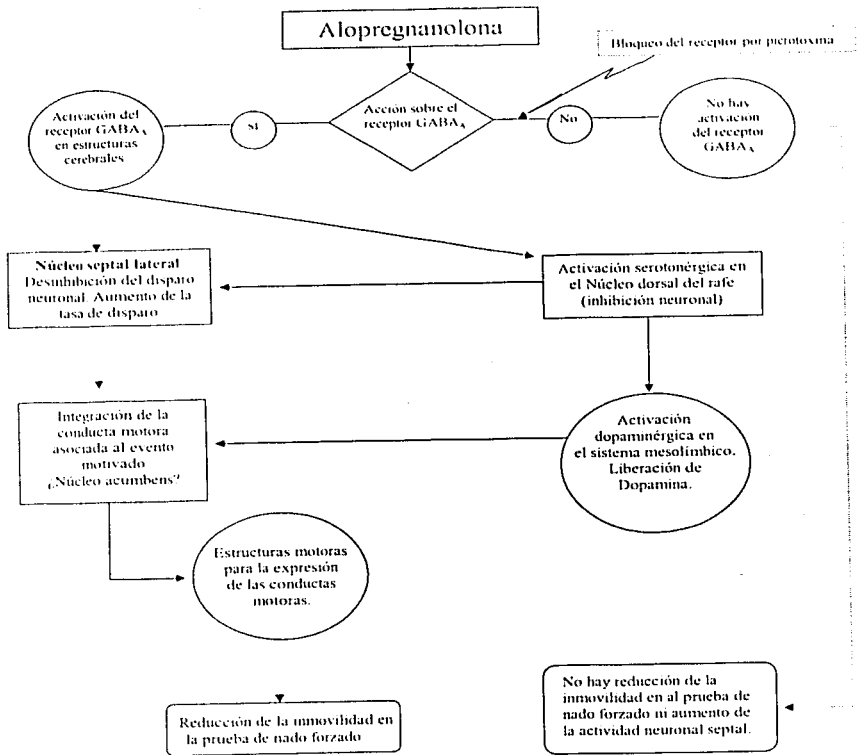


Figura 21. Posible interacción entre los sistemas de neurotransmisión GABAérgico, serotoninérgico y dopaminérgico asociado al tratamiento con la alopregnanolona. Probablemente la activación de estos sistemas de neurotransmisión sea la causa de la activación neuronal en el núcleo septal lateral y en consecuencia de la reducción de la inmovilidad en el nado forzado. Pero cuando el receptor GABA<sub>A</sub> se encuentra antagonizado por la picrotoxina, entonces no se da la respuesta conductual motivada en la prueba de nado forzado.

## APÉNDICE I

Contreras CM, Saavedra M, **Rodríguez-Landa JF**, Bernal-Morales B, Gutiérrez-García AG. Neuroquímica de la emoción y la motivación. En: Hernández-González M (Ed). Motivación Animal y Humana. México: El Manual Moderno; México, D.F. 2002:39-64. (ISSN: 970-270-148-1).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# Motivación animal y humana

Marisela Hernández González



*Manual Moderno*



# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Nos interesa su opinión, comuníquese con nosotros:



Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.  
Av. Sorocana núm. 206, Col. Hipódromo  
Delgado, Cuauhtémoc, 06100 México, D.F.



(52-55)52-65-11-62



(52-55)52-65-11-00



efo@emz.ualmoderno.com

## Motivación animal y humana

D.R. © 2002 por Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.  
ISBN-968-426-971-4

Miembro de la Cámara Nacional  
de la Industria Editorial Mexicana. Reg. núm. 39

En colaboración con:

Instituto de Neurociencias,  
Universidad de Guadalajara.  
ISBN 970-27-0148-1  
Av. Juárez núm. 95,  
Sector Hielagos,  
31100 Guadalajara, Jalisco

Facultad de Psicología

Universidad Nacional Autónoma de México  
ISBN-968-36-9924-4  
Torre de Rectoría, 9. piso,  
Ciudad Universitaria, Coyoacán  
04510 México, D.F.

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de  
esta publicación puede ser reproducida, almacenada  
en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida  
por otro medio — electrónico, mecánico, foto óptico,  
registrador, etcétera— sin permiso previo por escrito  
de la Editorial.

All rights reserved. No part of this publication  
may be reproduced, stored in a retrieval system  
or transmitted in any form or by any means,  
electronic, mechanical, photocopying, recording,  
or otherwise, without the prior permission in  
writing from the Publisher.



**Manual Moderno**®

es marca registrada de  
Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.

Hernández, González, Matute

Motivación animal y humana / Matute Hernández

González / México: Editorial El Manual Moderno

Universidad de Guadalajara. Instituto de Neurociencias / UNAM,

Facultad de Psicología, 2002

es 274 p. 4 cm.

Incluye índice.

ISBN-968-426-971-4 (Editorial El Manual Moderno)

970-27-0148-1 (Universidad de Guadalajara)

968-36-9924-4 (UNAM. Facultad de Psicología)

1. Neurobiología. 2. Neurobiología. 3. Neuroquímica. 4.  
Motivación (Psicología). 5. Motivación, animales. I. Universidad  
de Guadalajara. Instituto de Neurociencias. II. Universidad Nacional  
Autónoma de México. Facultad de Psicología. III.

612.8 HLR m

Biblioteca Nacional de México

Eslo editorial:  
Manuel Bernal Pérez  
Diseño y formación de paginas:  
Rocío Pérez Morales

Índice:  
Cecilia Llamas Monsalvo  
Diseño de portada  
Arturo Delgado Fuentes

B

# Neuroquímica de la motivación y la emoción

Dr. Carlos M. Contreras,  
Dra. Margarita Saavedra Velez,  
M. en C. Juan Francisco Rodríguez Landa,  
M. en C. Blandina Bernal Morales  
M. en C. Ana G. Gutiérrez García\*

## Capítulo 3

### INTRODUCCIÓN

El estudio de las causas de la emoción y la motivación ha variado a lo largo de la historia y evolucionado gradualmente. En un inicio y durante milenios las causas íntimas de la conducta se atribuyeron a factores ajenos al propio ser humano. Así, el comportamiento era atribuido a dioses, magia y encantamiento, en pautas del pensar que han acompañado al humano de forma ineludible. En paralelo a esos mitos y creencias nace la idea de que el propio ser responde a cambios que se originan dentro de cada individuo. Por ejemplo, el uso de las sustancias psicotrópicas indefectiblemente se vinculó con una serie de rituales donde la magia estaba implicada en relación directa con el grado de intoxicación del conductor del evento, es decir, el brujo, chamán, mago o cualquier otro nombre que recibiera ese curioso personaje.

Aunque no existen fuentes que permitan comprobar de manera inequívoca lo dicho, es factible asumir que en esas civilizaciones primitivas los mismos podrían ser clasificados como nutritivos, venenosos o mágicos. Algunos reportes mencionan que los griegos hace poco más de 2000 años acudían a las Pitonisas, quienes realizaban el oráculo o pronóstico de vida bajo los efectos de ciertos vapores que probablemente contenían óxido nítrico y que emanaban del

\* Durante el desarrollo de este trabajo J. F. Rodríguez Landa, B. Bernal Morales y A. G. Gutiérrez García recibieron Becas para Estudios de Posgrado por parte de CONACYT, México (registros 124885, 124657, 150023, respectivamente), así como de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEPEUNAM).

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

lugar donde vivían. En el siglo XIX, éste fue el primer anestésico general identificado, conocido como "gas hilarante", debido a que al inicio produce un estado de euforia.

El concepto de locura ha evolucionado con el tiempo, pasando por concepciones mágicas e incluso místicas, como es el bello concepto de *fratismo* de Rotterdam. Sin embargo, en estos días la locura es considerada como un trastorno al que se le denomina "estado psicótico", el cual está compuesto por un conglomerado de padecimientos. Quienes padecen alguna forma de estos padecimientos han perdido el control de sus acciones y de su percepción, y a menudo se caracterizan por agitación extrema. Para su tratamiento se han realizado intentos farmacológicos desde tiempos inmemoriales, por ejemplo, en la Grecia antigua se mencionó la existencia de Melampo, una suerte de hechicero que usaba el eleboto macho para sus curaciones, incluso se menciona que Heracles fue curado de su locura con este medio. Estas propiedades se han verificado al menos parcialmente, pero su uso no es recomendado debido a los efectos dañinos al corazón que tienen sus componentes químicos, como la veratrina.

De manera similar, Hipócrates recomendaba el uso de la mandrágora, en la cual se ha identificado un contenido elevado de atropina y escopolamina. Estas dos sustancias poseen propiedades anticolinérgicas y, por tanto, son consideradas como sedantes débiles, sin embargo, a grandes dosis pueden ser alucinógenas, como ocurre con algunas plantas del género *Datura* —tal es el caso del popular "toloache". En el *Avatar Vidá*, libro sagrado de los hindúes, se habla de una planta llamada "sarpagandha" de la que se decía era capaz de curar la epilepsia, pero también la locura, en el siglo XVII conhard Rawoll la llevó a Europa y pronto se le rebautizó como *Kassollia* o *trpentina* la cual, a partir del siglo XX, recibió toda la atención médica, primero por parte de los hindúes y luego por todo el mundo, para llegar a la síntesis de su compuesto activo, la reserpina, misma que se utilizó durante muchos años contra la hipertensión y con notables propiedades tranquilizantes que la hacían apropiada para el tratamiento de las llamadas psicosis agudas.

En fin, lo que se intenta destacar aquí es que desde hace siglos el ser humano experimento que la ingestión de ciertas sustancias afectaba la función de su cerebro y, en consecuencia, la percepción de su entorno, su estado de ánimo y su vida misma.

Mediante ensayos de administración de ciertos productos naturales ha sido posible mejorar la calidad de vida en aquellos individuos que presentan alteraciones que involucran aspectos emocionales y motivacionales de la conducta. Posteriormente se pudo llegar al proceso de síntesis de algunas de esas sustancias y en el caso más avanzado ha sido factible sintetizar nuevos compuestos, todos ellos, con acciones contundentes sobre la emoción y la motivación. Conviene mencionar que del estudio de las acciones de estos compuestos, denominados psicofármacos, es que se han podido identificar algunos sustratos anatómofuncionales implicados en la expresión y regulación de nuestras emociones y motivaciones.

Dentro de la primera mitad del siglo XX, Otto Loewy realizó un experimento que transformó el concepto de las neurociencias. Para ese tiempo se conocía bien que las neuronas manejan información de tipo eléctrico y se comunican entre sí a través de la sinapsis, un concepto hasta entonces anatómico que se refería a un sitio de contacto entre neuronas. El gran avance obtenido por este autor consistió en que además de la presencia de eventos eléctricos descubrió que también participan sustancias —llamadas neurotransmisores— encargadas de transmitir la información en la sinapsis, modificando la función de la neurona que recibe el mensaje químico. Expresado de manera muy simple, ciertos eventos eléctricos en la porción terminal de la neurona presináptica conducen a la liberación del neurotransmisor, el cual modifica la permeabilidad de la membrana de la neurona postsináptica mediante estructuras proteicas llamadas receptores.

Ahora bien, los neurotransmisores son sustancias que se identifican con una nomenclatura química basada en la definición de su naturaleza genérica, como sería el caso de las catecolaminas (amíbas que tienen un grupo químico catecol) y la acetilcolina; además de aminoácidos con funciones de neurotransmisores como el aspartato y el glutamato. Actualmente se conoce una larga lista de sustancias con posibilidades de ser consideradas neurotransmisores, neuromoduladores o ambos. Como contraparte, se han identificado varias docenas de receptores que tienen la capacidad de reconocer e interactuar con los neurotransmisores.

En este capítulo se intentará resumir las acciones que se han establecido para algunos de estos neurotransmisores, sus receptores y su relación con la emoción y la motivación.

## CATECOLAMINAS

Algunos hallazgos en el quehacer científico son resultado de la serendipia, sin embargo, esto no implica que la aparición de los mismos sea debida al azar. Se trata de verdaderas proezas de observación así como de capacidad de abstracción y de síntesis. Por ejemplo, la ipromazida es un compuesto eficaz contra el agente causal de la tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) que, además, tiene la capacidad de mejorar el estado de ánimo de estos enfermos. Hacia 1957, Crane, Lommen, Saunders y Kline le ensayaron como antidepresivo con magníficos resultados y pronto se supo que sus acciones se debían a la inhibición de la enzima monoaminoxidasa (MAO), la cual degrada a las amíbas biogénas, principalmente noradrenalina y serotonina. De este modo nació todo un grupo de fármacos con potencia antidepresiva, los que recibieron el nombre de inhibidores de la monoaminoxidasa (MAOI). El mismo año, en Suiza, Klum intentaba sintetizar sustancias con potencia antipsicótica que además pudiesen tener acciones antihistamínicas, con lo que produjo las dibenzodiazepinas, las cuales resultaron poseer acciones antidepresivas y, por su estructura molecular, recibieron la denominación de antidepresivos triazolicos.

Como se verá a continuación, las catecolaminas son sustancias con una amplia variedad de acciones sobre el organismo y la conducta. En el contexto de la motivación, por ejemplo, la noradrenalina y sus receptores son uno de los primeros sitios sobre los que actúan los antidepresivos, en tanto que la dopamina se relaciona con fenómenos reguladores de la secreción de hormonas, con el control fino del movimiento y, en particular, con el hedonismo — este último entendido como la búsqueda de placer.

Las catecolaminas — dopamina, noradrenalina y adrenalina — son sustancias producidas en el cerebro a partir de un mismo aminoácido, la L-tirosina, el cual es obtenido de los alimentos y debe atravesar la barrera hematoencefálica para ser transportado hacia el cerebro hasta llegar a los neurones neuronales, en los cuales será transformado enzimáticamente. En la ruta metabólica de las catecolaminas, la dopamina es el primer neurotransmisor sintetizado, lo que ocurre predominantemente con la noradrenalina y la adrenalina (figura 3.1).

Las catecolaminas son compuestos formados por un núcleo catecol (un anillo de benceno con dos hidroxilos) y una cadena de etilamino (cadena de sus侧链). Estas sustancias actúan como mensajeros químicos en el sistema nervioso, la dopamina y la noradrenalina ejercen sus acciones a nivel central, mientras que la adrenalina ejerce sus efectos particularmente a nivel periférico. La dopamina y la noradrenalina participan en diversas funciones, como la regulación neuroendocrina, la actividad motora, la afectividad, la ingestión de agua y alimento, así como en la atención a drogas psicoactivas. Es por ello que estos dos

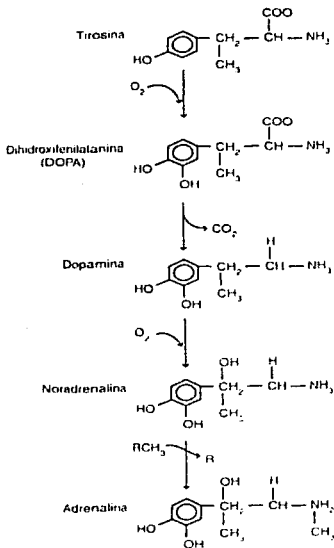


Figura 3-1. Vía sintética de las catecolaminas. Las catecolaminas se sintetizan a partir de la tirosina la cual, por medio de la enzima tirosinohidroxilasa, es convertida en dihidroxilalanina (DOFA) misma que, mediante la DOPAdescarboxilasa, pasa a ser dopamina. La dopamina es convertida en noradrenalina por medio de la enzima dopamina  $\beta$ -hidroxilasa y esta, finalmente, llega a convertirse en adrenalina por medio de la feniletanolamina *N*-metiltransferasa.

neurotransmisores han sido implicados de manera importante en la regulación y la expresión de algunos aspectos de la conducta motivada

## DOPAMINA

Hasta hace poco tiempo, se consideraba que la dopamina era solo un producto intermedio en la síntesis de las catecolaminas. Sin embargo, a partir de la observación de que la distribución cerebral de la dopamina y de la noradrenalina es diferente, y que la primera es mucho más abundante que la segunda, se les definió como dos neurotransmisores distintos. Ahora, la dopamina es concebida como uno de los neurotransmisores catecolaminérgicos más importantes del sistema nervioso central (SNC) y se le relaciona con la regulación de diversas funciones motoras, neuroendocrinas, motivacionales, afectivas, así como con el consumo de drogas altamente adictivas como la cocaína, las amfetaminas y otros psicó-

timulantes. El refinamiento de las técnicas inmunohistoquímicas, como la inmunofluorescencia, ha permitido identificar los sitios de síntesis de dopamina, así como de las estructuras que la reciben; esto ha hecho posible distinguir las vías dopaminérgicas cerebrales.

### Vías dopaminérgicas

Las neuronas dopaminérgicas se distribuyen en tres sistemas con propiedades anatómicas y funcionales diferentes (figura 3-2): a) el nigroestriado se origina en la sustancia negra (grupo celular A9), envía proyecciones hacia el cuerpo estriado y está involucrado en funciones motoras extrapiramidales, b) el mesolímbico y el mesocortical, se originan en el área tegmental ventral (grupo celular A10) y proyectan fibras hacia estructuras del cerebro anterior como la corteza cerebral, el tubérculo olfatorio, el septum y el núcleo *accumbens*. Este sistema ha sido involucrado principalmente con funciones cognitivas, con la adicción a drogas psicoactivas y con la motivación, y c) el tuberofundibular que se origina en el hipotálamo (núcleo arqueado y paraventricular) y proyecta al lóbulo intermedio de la hipófisis y a la eminencia media, en tanto, participa en la regulación neuroendocrina.

### Receptores a dopamina

Se han identificado dos grandes familias de receptores para la dopamina: los D1, formada por los subtipos D<sub>1</sub> y D<sub>5</sub>; y los de tipo D2, a la que pertenecen los subtipos D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> y D<sub>4</sub>.

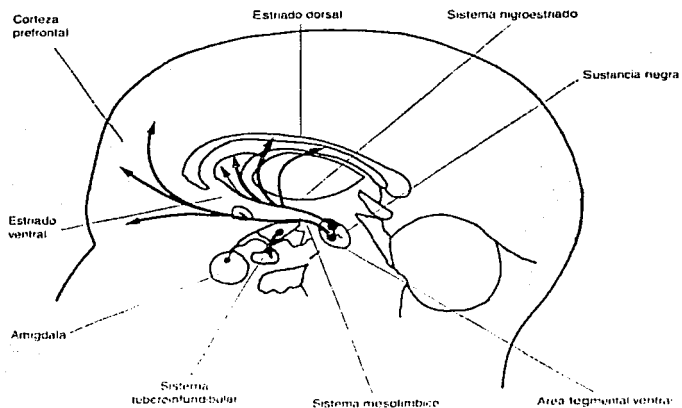


Figura 3-2. Vías dopaminérgicas. Se muestran tres de las principales vías dopaminérgicas y sus proyecciones hacia algunas estructuras cerebrales involucradas en la emoción y en la motivación.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

corto),  $D_2$ , ( $D_2$  brazo largo),  $D_3$  y  $D_4$ . Cada uno de estos receptores se encuentra distribuido de manera diferencial en diversas estructuras cerebrales y posee características propias que le dan una función específica (cuadro 3-1).

### Implicación de la dopamina en la motivación y la emoción

Con base en estudios neurofisiológicos, neuroquímicos y conductuales, se postula que algunas de las estructuras que integran al sistema mesolímbico están directamente involucradas en la regulación de la conducta motivada; así, se ha propuesto que el núcleo *accumbens* podría funcionar como un centro integrador de la motivación, debido a que se le considera como una interfase entre estructuras límbicas (base anatómico-funcional de las emociones) y estructuras que conforman a los ganglios basales, los cuales participan en el control y modulación del movimiento.

De esta manera, se integraría tanto la información sensorial exteroceptiva como la propioceptiva relevantes para las manifestaciones de la conducta motivada establecida en estructuras del cerebro anterior. Los datos antes señalados explicarían algunos de los mecanismos neuronales involucrados en la transición de los aspectos motivacionales a los aspectos consuminatorios de la conducta, puesto que todo componente motivado implica necesariamente un acto motor, en el que el sistema dopaminérgico desempeña una función importante.

Al parecer, el sistema mesolímbico está implicado en el inicio, la integración sensoriomotora y la ejecución de las conductas dirigidas a sucesos biológicamente significativos, como la ingesta de alimento, el beber agua y la conducta sexual, así como en la ejecución de tareas relacionadas con la obtención de reforzadores positivos. Lo anterior hace suponer que este sistema modula los componentes motores de las conductas dirigidas hacia una meta, es decir, las conductas motivadas. En este sentido, la activación de esta vía relacionada con la recompensa es un detonante esencial para la motivación, un incentivo para aprender y repetir la conducta adaptativa gracias al llamado reforzamiento.

Así, por ejemplo, en el paradigma de autoadministración de fármacos en el que se utilizan como reforzadores drogas altamente adictivas como la heroína, la morfina, la cocaína y las anfetaminas, los animales presionan palancas a tasas elevadas para recibir la droga. Todas estas sustancias tienen en común activar al sistema mesolímbico e incrementar las concentraciones extracelulares de dopamina en el núcleo *accumbens*, de manera semejante a lo que sucede durante la autoestimulación intracerebral de áreas identificadas con la recompensa, como es el caso del área tegmental ventral. Este hecho se ha relacionado con dos aspectos de la conducta: 1) las propiedades gratificantes de ciertos estímulos y 2) la respuesta motora que subyace a la motivación que lleva a preferir y aproximarse a esa clase de fuentes de estimulación. Entonces, las drogas que estimulan la transmisión dopaminérgica — como la cocaína, la heroína y las anfetaminas — podrían caracterizarse por la interacción que llevan a cabo entre estos dos aspectos.

Al igual que en la autoestimulación intracerebral o en la autoadministración de drogas adictivas, cuando se les permite a las ratas privadas de alimento el acceso a este recurso, se incrementan las concentraciones extracelulares de dopamina en el núcleo *accumbens*; un efecto que no sucede en los animales con libre acceso al alimento. Este aumento de la dopamina extracelular también se ha detectado durante la fase consumatoria de la actividad sexual de la rata, lo que pone en evidencia la relación entre la activación dopaminérgica y un posible estado placentero asociado con la conducta motivada.

En contraparte, cuando se administran antagonistas dopaminérgicos (como el sulpiride) a los animales, disminuye la tasa de autoestimulación intracerebral o de otro reforzador

Cuadro 3-1. Clasificación de los receptores a dopamina con algunas de sus características fisiológicas y su función

	Familia D <sub>1</sub>		Familia D <sub>2</sub>			
	D <sub>1</sub>	D	D <sub>2</sub> (presináptico)	D <sub>2</sub> (postsináptico)	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
Efecto sobre la adenilciclasa	Estimulan	Estimulan	Inhiben	Inhiben	Inhiben ?	Inhiben ?
Localización	Presinápticos	?	Presinápticos	Postsinápticos	Presinápticos	?
Distribución en el cerebro	Estríado, núcleo accumbens, tubérculo olfatorio y corteza cerebral	Núcleo caudado-putamen, núcleo accumbens, tubérculo olfatorio y, en baja proporción, en la corteza cerebral	Estríado, sustancia negra, tubérculo olfatorio, corteza cerebral, área tegmental ventral, núcleo caudado y área retrorubral	Núcleo accumbens, sustancia negra, estríado, septum lateral, talamo y globo pálido	Tubérculo olfatorio, hipotálamo, núcleo accumbens, cerebelo, sustancia negra, amígdala, hipotálamo, hipófisis y, en baja proporción, en la corteza cerebral	Corteza frontal, mesencefalo, amígdala y bulbo raquídeo
Distribución en la periferia	Sistema cardiovascular, glándula paratiroides	Sistema cardiovascular	Sistema cardiovascular, corazón, hipófisis	Participa en algunos aspectos motores y en la emisión de conductas asociadas con aspectos motivados	?	Sistema cardiovascular, corazón y retina
Función	Regula funciones motoras y cardiovasculares. Participa en la regulación de los mecanismos del ciclo sueño-vigilia	?	Autorreceptor. Participa en funciones motoras, en algunos aspectos de la emoción y en la integración y expresión de las conductas motivadas. Regula la síntesis y la liberación de dopamina, así como la secreción de prolactina en la hipófisis; funciones cardiovasculares	Esta involucrado en el trastorno depresivo. Función moduladora a nivel postsináptico	Participa de manera importante en la integración y la expresión de eventos motores. Esta involucrado en la fisiopatología de la esquizofrenia	En el sistema límbico está relacionado con la fisiopatología de la esquizofrenia y otras enfermedades psiquiátricas. Regulación cardiovascular



positivo, e igualmente se hace menor la actividad motora y exploratoria del animal, aun bajo el tratamiento con drogas estimulantes del SNC. Del mismo modo, la disfunción dopaminérgica del sistema mesolímbico se vincula con alteraciones en la conducta motora y con falta de motivación.

Como ejemplo de lo anterior puede citarse el empleo de metodologías como la lesión de las neuronas dopaminérgicas con el neurotóxico 6-hydroxidopamina (6-OHDA), la cual ha demostrado el papel funcional de la dopamina del sistema mesolímbico en la conducta de recompensa y en la actividad motora. La destrucción de esas neuronas, produce una serie de déficit de la actividad motora espontánea y exploratoria, lo que conduce al síndrome del déficit sensoriomotor, caracterizado por ataxia y adipsia. Por otra parte, la aplicación de dosis altas de antagonistas a los receptores dopaminérgicos influye de manera negativa sobre diversos aspectos de la motivación, especialmente en la fase anticipatoria (pulsión y aproximación) y la consumatoria (acto realizado) de diversas conductas. Las alteraciones observadas después de la destrucción selectiva del sistema dopaminérgico, sugieren que la vía mesolímbica constituye una parte de la base anatomofuncional por medio de la cual el cerebro elabora, organiza y coordina estrategias motoras dirigidas a conseguir experiencias gratificantes.

Además, se propone que el retraso psicomotor, la falta de motivación y el bajo estado emocional que caracteriza a los pacientes con trastornos afectivos, como la depresión, se deben en parte a la disfunción dopaminérgica, puesto que en algunos de ellos se detectan concentraciones plasmáticas disminuidas de dopamina; de su metabolito, el ácido dihidroxiifenilacético, y de los receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> localizados en el estrado y el núcleo *accumbens*. En apoyo a estas observaciones clínicas, en los animales sometidos a diversos factores estresantes y que además tienen la desesperanza conductual (caracterizada por una disminución de la actividad motora y de la motivación por resolver una situación de apremio) así como por conductas sugerentes de anhedonia (incapacidad para experimentar placer) se encuentra una disminución de la actividad dopaminérgica en el sistema mesolímbico. En este sistema se ha encontrado reducción de la dopamina extracelular, así como disminución de la síntesis del ácido ribonucleico mensajero (mRNA) que codifica a los receptores de dopamina (D<sub>1</sub>), en el núcleo *accumbens* y en otras estructuras como el cuerpo estriado.

En la práctica de modo forzoso (ataques o ratones) son introducidos a un estancón cerrado. Pronto, los animales muestran un estado de ánimo muy escaso, posible, despliegan un estado de desesperanza, en el que abandonan el intento por escapar y tienden a mantenerse simplemente a flote, inactivos. De modo notable, diversos fármacos antidepressivos disminuyen el tiempo de inmovilidad. Es de particular interés el que este efecto antimovilidad sea compartido por inhibidores de la recaptura de dopamina como el bupropión. Entonces, la disminución de la inmovilidad ejercida por los antidepressivos se debe al incremento de la motivación del animal para buscar una salida a la situación de apremio que representa el medio forzado, hallándose probablemente asociada en la activación del sistema dopaminérgico mesolímbico.

En apoyo a esta idea, la aplicación *in situ* en el núcleo *accumbens* de antagonistas dopaminérgicos D<sub>1</sub>, como el salpiral, cancela las acciones antimovilidad de los antidepressivos, un efecto que también se observa con la administración sistémica de los antagonistas dopaminérgicos. Lo anterior señala que el sistema dopaminérgico, o los receptores D<sub>1</sub>, participan en el efecto motivacional de los antidepressivos, el cual quizá está representado por la recuperación de cierto grado normal de hedonismo en el individuo deprimido que sana.

Con base en los datos antes mencionados se puede decir entonces que la dopamina en el sistema mesolímbico, y en particular en el núcleo *accumbens*, participa de manera importante en la integración de los procesos que de algún modo median, dirigen, mantienen y

detienen una secuencia de conductas encaminadas a obtener una recompensa, lo que finalmente se traduce en la expresión de la conducta motivada; claro está, sin descartar la participación de los demás sistemas de neurotransmisión: noradrenérgico, serotoninérgico, GABAérgico, así como el de los neuroesteroides, los cuales se revisan a continuación.

## NORADRENALINA

La noradrenalina (NA, también conocida como norepinefrina) es una hormona liberada por la médula de las glándulas suprarrenales bajo condiciones de temor o estrés, es el transmisor de las neuronas simpáticas posganglionares y produce diversos efectos periféricos autonómicos como taquicardia, ruborización, temblor de manos, entre otros, los cuales revelan la activación del sistema nervioso autónomo en su división del gran simpático. A nivel central, la síntesis de NA ocurre en los cuerpos celulares que se encuentran combinados en el tallo cerebral en grupos neuronales identificados desde A1 hasta A7, siendo el grupo A6, localizado en el *locus coeruleus* (LC), el más prominente. La NA se inactiva mediante su propia recaptura en la terminal presináptica, en donde la MAO la degrada por desaminación oxidativa. Existe también otra enzima que limita sus acciones, la catecol O-metiltransferasa, la cual limita la difusión de NA al espacio sináptico debido a la metilación que sufre un átomo de carbono en el anillo aromático de NA, con lo que se crean barreras de difusión por impedimento estérico.

### Vías noradrenérgicas

El LC es la principal fuente de aporte de NA y proyecta sus fibras prácticamente a todo el cerebro, entre las áreas que reciben aferencias del LC se encuentran el cerebelo, la corteza cerebral y estructuras que conforman el sistema límbico. Específicamente, las vías noradrenérgicas son dos: la del LC (haz dorsal) y la del área tegmental lateral (haz ventral). La vía dorsal está localizada a nivel del puente y del mesencefalo, mientras que la vía lateral se localiza en el puente y en la médula espinal (figura 3-3).

### Receptores a noradrenalina

Los estudios farmacológicos en el SNC y sistema nervioso periférico indican que la NA puede actuar en cuatro subtipos distintos de receptores:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_2$ , aunque recientemente se han descubierto los subtipos  $\alpha_1A$ ,  $\alpha_1B$ ,  $\alpha_1D$ ,  $\alpha_2A$ ,  $\alpha_2B$ ,  $\alpha_2C$ ,  $\alpha_2D$  y el  $\beta_3$ . La clasificación de los primeros receptores adrenérgicos identificados originalmente sirvió para explicar las acciones fisiológicas periféricas aparentemente opuestas de la adrenalina y NA, y su grado de afinidad por el receptor. Sin embargo, no siempre el resultado de la activación de estos receptores es antagonista, más bien depende del tipo de célula y la región cerebral en donde se encuentran. Adicionalmente tienen una amplia distribución en el sistema periférico y central (cuadro 3-2).

### Implicación del sistema noradrenérgico en la motivación

Aunque se ha asumido que la dopamina posee la función central en los procesos motivacionales, la NA tiene una amplia participación en gran medida puesto que ambos neurotransmisores comparten la misma vía sinérgica (figura 3-1). El LC, por su parte, tiene una actividad tónica inherente que varía con el estado de alerta del animal. Diversos estímulos sensoriales pueden provocar respuestas de "lucha-huída", paralelas al incremento en el

K

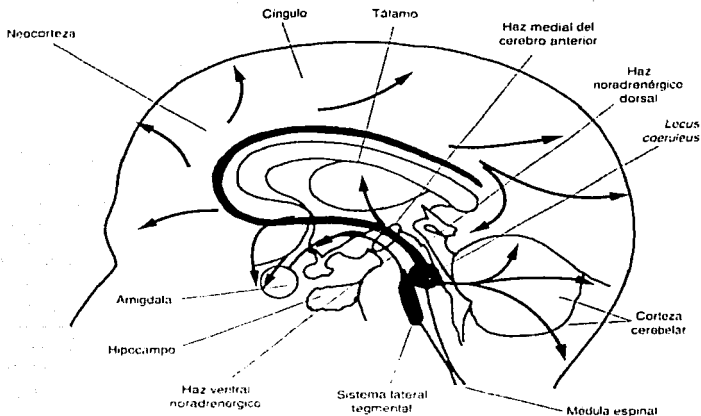


Figura 3-3. Vías noradrenérgicas. Se muestran las dos principales vías noradrenérgicas. El locus coeruleus es la principal fuente de fibras noradrenérgicas que proyectan hacia todo el sistema nervioso central.

recambio de NA en las terminales neuronales y a la activación de las neuronas noradrenérgicas periféricas, lo que resulta en la alteración de la conducta dirigida.

El origen de los fundamentos neurales y bioquímicos de la motivación se remonta a 1954 con las aportaciones de Olds y Milner sobre la autoestimulación intracranial. Cuando a los animales en el experimento se les colocaron electrodos en estructuras límbicas, como el hipotálamo, y se les permitió el acceso a palancas con cuya presión podían autoestimularse, se observó que lo hicieron con mucha frecuencia. También las estructuras que se sitúan a lo largo del haz del cerebro anterior medial son sitios de recompensa, dado que son susceptibles a altas tasas de autoestimulación.

A pesar de que existen diferencias en las propiedades de recompensa de la autoestimulación intracranial comparada con el agua y alimento, es claro que las catecolaminas, NA y dopamina, intervienen de manera directa. Esta conclusión parte de estudios hechos por Stern y Wise en 1969, quienes demostraron el aumento de la liberación de las catecolaminas en el hipotálamo, la amígdala e hipocampo, como consecuencia de la autoestimulación. Más tarde, los mismos autores reportaron que la lesión química de las terminales noradrenérgicas con 6-OHDA inyectado en el tercer ventrículo, produce un déficit importante en la tasa de autoestimulación.

La NA también ha sido reconocida como un neurotransmisor que tiene efectos sobre la ingesta de alimento en la rata. En este sentido, la inyección de agonistas a los receptores noradrenérgicos cerca del núcleo paraventricular del hipotálamo en una rata saciada, pro-

Cuadro 3-2. Receptores noradrenérgicos

Receptor	Subtipo	Características	Localización	Función
$\beta_1$		Estimula adeniliciclasa, y la liberación del neurotransmisor.	Presináptica. Periférica: vasos sanguíneos, corazón, tejido adiposo, vesícula biliar.	Regulación ciclo vigilia-sueño. Acciones antidepressivas ( $\alpha$ ).
		Relacionados con la relajación del músculo liso, el metabolismo de grasas y la contracción del músculo cardíaco	Central: cerebelo, <i>locus coeruleus</i> , núcleo caudado, cuerpo calloso, <i>septum</i> hipocampo, corteza frontal y parietal, amígdala, cíngulo, talamo, bulbo olfatorio	Respuesta al estrés ( $\beta_1$ ), obesidad ( $\beta_1$ ), regulación cardiovascular ( $\beta_1$ ), leucomocitoma ( $\alpha, \beta$ ), hipertensión ( $\alpha, \beta$ ), depresión ( $\alpha$ y $\beta$ ), analgesia ( $\alpha$ ), agresión ( $\alpha$ )
$\beta_2$	A	Activa fosfolipasas. Asociados con la contracción del músculo liso	Principalmente posináptico. Periférico: músculo liso, vasos sanguíneos, hígado, plaquetas, corazón.	
	B		Central: <i>locus coeruleus</i> , corteza frontal, rafe dorsal, hipocampo, talamo, corteza	
	D			
$\alpha_2$	A	Inhibe adeniliciclasa. Asociados a la contracción del músculo liso	Presináptico y posináptico. Central: ganglios de la raíz dorsal, hipotálamo, <i>área pre-óptica</i> , <i>locus coeruleus</i> , <i>septum</i> corteza, tallo cerebral, hipocampo, cuerpo geniculado	
	B			
	C			
	D			

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

duce consumo adicional de alimento. La porción del hipotálamo rostral que promueve la ingesta, contiene vías adrenergicas que provienen del sistema de alerta que asciende desde el tallo cerebral hasta el cerebro anterior. La liberación de NA en esta región bloquea la integración de la información de saciedad y la de apetito, lo que reguladamente controla la conducta de alimentación mediante la interacción entre las vías aferentes asociadas con las de los receptores  $\alpha_2$  a través de algunas neuronas asociativas, localizadas probablemente en el sistema límbico o en la neocórtex.

Las neuronas hipotalámicas paraventriculares pueden estar inhibidas o facilitadas por la NA y, dependiendo de su condición, pueden impedir que se transmita información sobre el sabor y el estado de plenitud del tracto digestivo. Por tanto, cuando las vías adrenergicas ascendentes están lo suficientemente activadas, los límites normales aprendidos sobre la ingesta pueden ser quebrantados lo que, por otra parte, abre una interesante alternativa para explicar el mecanismo neural de la sobrealimentación consecutiva a la ansiedad.

La recopilación de numerosos estudios al respecto proporciona las siguientes propuestas a los estudios de la liberación de NA durante el ayuno o la saciedad sugieren la participación

M

de regiones hipotalámicas en la conducta de alimentación; b) existen evidencias de la función causal de NA en la ingesta de alimentos de animales saciados, pero también existen diferencias interespecíficas de supresión de la conducta de ingestión después de la inyección de NA en el hipotálamo; c) los antagonistas noradrenérgicos como la fentolamina no sólo bloquean la inducción de la alimentación, sino que atenuan la ingestión espontánea después de la privación de alimento; d) parece que el sistema de inhibición de la ingesta de alimentos está constituido por la parte ventral del plexo de fibras noradrenérgicas en el tracto tegmental central y, por el contrario, el sistema de facilitación aparentemente está conformado por el componente dorsal del tracto tegmental central que termina en el hipotálamo paraventricular; e) la lesión con 6-OHDA en el haz ventral causa hiperfagia y ganancia de peso —pero aún no se tiene la certeza de que participe la NA— en tanto que la lesión electrolítica o con 6-OHDA en el haz dorsal hacia el LC no afecta la ingesta de alimento, aunque puede ocurrir hiperdipsia (exceso de ingesta de agua) cuando la lesión se produce hacia la zona adyacente no noradrenérgica del tegmento dorsolateral.

En relación con la conducta sexual, la NA ejerce una función de tipo facilitador, mientras que la lesión del LC, el bloqueo de la síntesis o la reducción de los niveles de NA, tienen un papel inhibitorio. El mecanismo de acción es complejo; así, la activación de los receptores  $\alpha_1$  facilita la copula, mientras que la de los  $\alpha_2$  la inhibe. Asimismo, se ha comprobado la acción inhibitoria de la activación  $\alpha_1$  adrenergica sobre aspectos de la conducta sexual en hombres y mujeres. Sin embargo, la activación de estos receptores  $\alpha$  tiene efectos opuestos sobre respuestas sexuales en otros contextos, por ejemplo, en las erecciones reflejas observadas en animales de laboratorio.

Al hablar de la neuroquímica de la emoción y la motivación, es indispensable hacer referencia al campo relacionado con los trastornos afectivos, puesto que algunos síntomas como alteración en el estado de ánimo, interés disminuido por las actividades cotidianas, pérdida de peso y sentimiento de inutilidad, son indicativos de la alteración en los componentes motivacionales del individuo. La hipótesis catecolaminérgica de los trastornos afectivos, propuesta desde 1965 por Schildkraut, estableció que la depresión está vinculada con la deficiencia de NA a nivel de los receptores noradrenérgicos, mientras que la manía se relaciona con un exceso de NA. Así, por ejemplo, en el individuo deprimido se presenta una disminución de los metabolitos de NA en orina y líquido cefalorraquídeo; además, los estudios *postmortem* han revelado un incremento en la densidad de los receptores a NA en la corteza cerebral de sujetos suicidas deprimidos.

Se puede pensar que una cantidad elevada de receptores es una señal de mayor contacto entre la NA y sus receptores y, por tanto, de una mayor neurotransmisión. De hecho, este incremento es lo que realmente se esperaría que ocurriera si las concentraciones de NA fueran anormalmente bajas a nivel sináptico. Esto es, cuando las moléculas del neurotransmisor se hacen inusualmente escasas en las sinapsis, las células posinápticas con frecuencia aumentan el número de receptores como un fenómeno compensatorio para detectar alguna señal disponible del neurotransmisor.

Así, muchos fármacos que interfieren en las sinapsis noradrenérgicas influyen en la regulación de estados emocionales; por ejemplo, la reserpina usada comúnmente para el tratamiento de la hipertensión arterial, provoca depresión grave. El mecanismo consiste en que la reserpina impide el almacenamiento de NA en la vesícula sináptica, de modo que la NA puede ser más readily por la MAO. Los efectos conductuales provocados por la reserpina en ratas de laboratorio ejercen el mismo déficit conductual desencadenado por el estrés intenso y remeslan algunos aspectos del síndrome depresivo como son la disminución de la

12

actividad motora, del apetito, del acicalamiento y disturbios del sueño. Varios fármacos antidepressivos como los tricíclicos, los IMAO, los atípicos y la nueva clase de antidepressivos que poseen mayor especificidad sobre los sistemas de neurotransmisión (venlafaxina, nefazodona, mirtazapina y reboksetina), intensifican la acción de NA a nivel sináptico y elevan el estado de ánimo en el humano.

El sistema noradrenérgico, por otra parte, participa de manera importante en la regulación de la inmovilidad observada en animales que son introducidos en el modelo de nado forzado. Los inhibidores de la recaptura de NA como la imipramina, la desmetilimipramina, maprotilina y reboksetina son antidepressivos clínicamente eficaces y reducen la inmovilidad en la prueba de nado forzado a través de sus interacciones con los receptores  $\beta$ -adrenérgicos y  $\alpha$ -adrenérgicos. Es interesante notar que el tipo de conductas activas que promueven el nado a través del sistema noradrenérgico es distinto del observado con el sistema serotonérgico, es decir, los fármacos que incrementan la neurotransmisión noradrenérgica incrementan conductas tendientes al escape, como el "trepado" en la prueba de nado forzado, lo que sugiere que la conducta motivada es regulada de manera diferencial a través de más de un sistema de neurotransmisión.

Finalmente, los estímulos sobre los que el animal no tiene control provocan fallas en la respuesta de afrontamiento y cambios neuroquímicos consistentes en la disminución de la tasa de disparo neuronal en el LC, alteraciones morfológicas neuronales, disminución de la actividad enzimática de la tirosina hidroxilasa, fusión presináptica disminuida y reducción de los niveles de unión de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, interpretados como indicadores de una disminución en la habilidad noradrenérgica de las neuronas para responder. A pesar de la abundante evidencia de que los antidepressivos en los animales de experimentación producen cambios en las neuronas noradrenérgicas del LC y sus receptores, con respuestas similares a lo largo del tiempo a las observadas en humanos, no es posible concluir que los desórdenes bioquímicos de las neuronas noradrenérgicas sean responsables de la falta de motivación y anhedonia concomitantes a la depresión humana, o que los efectos de un tratamiento exitoso sean atribuibles a los cambios producidos en esas neuronas. Esa es la razón por la que resulta importante considerar el resto de las estructuras cerebrales asociadas y los demás neurotransmisores, para entender que el cerebro funciona a través de interacciones anatómicas, químicas y funcionales que hacen de la emoción y la motivación dos procesos altamente complejos.

## SEROTONINA

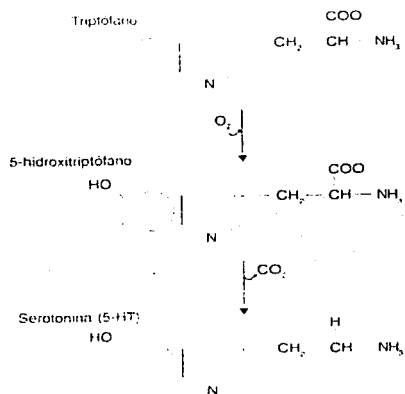
En esta sección se abordará la función que desempeña la neurotransmisión serotoninérgica en la motivación. Se dice que toda conducta está motivada cuando se dirige hacia alguna meta, pero este tipo de conducta es muy diversa, pues incluye y proporciona: se come, correjar a la pareja, poner un pañuelo y así sucesivamente. En cada especie animal existe una conducta básica que está dirigida a mantener la supervivencia del individuo y de la especie. Hambre, sed, deseo sexual y el alce to por la prole, son algunos de los elementos fundamentales de la motivación claramente relacionados con la supervivencia. La investigación ha tratado, hasta donde parece posible, de identificar los circuitos neuronales y bioquímicos responsables de la integración de aquellas conductas que finalmente se emiten para satisfacer estas necesidades básicas. Entre estos circuitos se ha involucrado al sistema serotoninérgico.



## SÍNTESIS

La serotonina (5-HT), es una indolamina que se encuentra en muchas partes del organismo y en células que no son neuronas, como plaquetas, células cebadas y células enterocromafines. De hecho, sólo de 1 a 2% de la 5-HT corporal se encuentra en el cerebro. Sin embargo, la 5-HT es uno de los neurotransmisores que se ha relacionado en mayor grado con los procesos emocionales y motivacionales. Su síntesis depende del aporte de un aminoácido, el triptófano, proveniente de la dieta, el cual por hidroxilación se convierte en 5-hidroxitriptófano. La enzima responsable de esta reacción es la triptófano hidroxilasa. Luego, la 5-HT se obtiene por descarboxilación del 5-hidroxitriptófano (figura 3-4).

La mayor parte de la 5-HT producida es desactivada por la enzima MAO mitocondrial, siendo el producto de esta reacción el 5-hidroxiindolacetaldehído (5-HIAA). Este compuesto es oxidado rápidamente por la deshidrogenasa alcoholica y transformado en ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA). Otro medio importante de inactivación serotoninérgica durante la sinapsis es un proceso activo de recaptura por autorreceptores en la neurona presináptica. Los metabolitos de la 5-HT son absorbidos a la sangre venosa por transporte activo en el plexo coroideo, para ser excretados por medio de la orina, junto con otros metabolitos. En la mayor parte de las sinapsis, la 5-HT produce potenciales posinápticos inhibitorios, es decir, hiperpolarización y reduce la posibilidad de disparo neuronal en la neurona posináptica; además, su efecto sobre la conducta, por lo general, es de tipo inhibitorio.



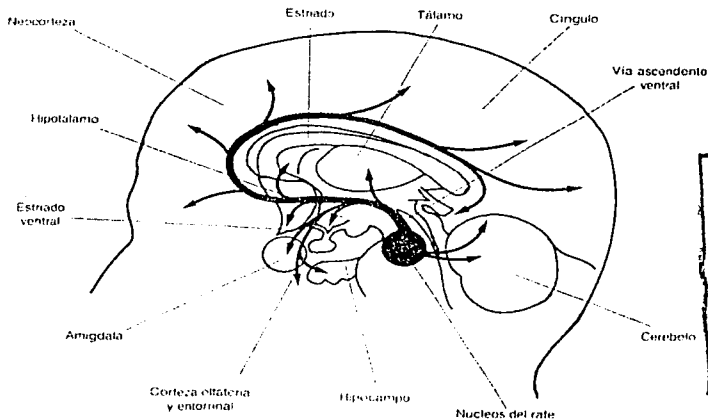
**Figura 3-4.** Biosíntesis de la serotonina. La serotonina se deriva del aminoácido triptófano. El primer paso en la reacción es catalizado por la enzima triptófano hidroxilasa. Esta enzima incorpora un grupo hidroxilo, produciendo 5-hidroxitriptófano. Otra enzima, la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos elimina el grupo carboxilo del 5-HTP y el resultado es serotonina.

## VÍAS SEROTONÉRGICAS

En el SNC, las neuronas que contienen 5-HT están agrupadas en la línea media a nivel del tallo cerebral, en los llamados núcleos del rafe. Este complejo celular está formado por nueve grupos neuronales, de los cuales parten proyecciones que se dividen en dos ramas principales, una llamada ascendente medial y otra lateral, las cuales se originan en el rafe mesencefálico (B7, B8 y B9) y rafe pontino (B5 y B6). Estas vías corren por el haz del prosencéfalo y dan origen a terminales que inervan el hipotálamo, el sistema límbico, el núcleo estriado y la corteza cerebral. La rama descendente comprende los núcleos del rafe B1 a B3, los cuales proyectan hacia la médula espinal (figura 3-5). Estas vías serotoninérgicas son muy similares entre los vertebrados, lo que sugiere que los sistemas son filogenéticamente antiguos y pueden tener funciones similares en todos ellos.

## RECEPTORES SEROTONÉRGICOS

Diversos estudios moleculares, bioquímicos y fisiológicos han demostrado la presencia de múltiples receptores a 5-HT en el sistema nervioso de los mamíferos. Los receptores serotoninérgicos se dividen en varios tipos de acuerdo con su afinidad por diferentes ligandos y, a su vez, cada familia tiene varios subtipos de receptores (cuadro 3-3). De esta manera, hasta hoy se han identificado siete tipos de receptores que comprenden a los 5-HT<sub>1A</sub>, 1B, 1C, 2A, 2B,



**Figura 3-5.** Vías serotoninérgicas. Se muestra la vía ascendente con sus proyecciones y sitios terminales. Los núcleos del rafe inervan mediante el haz medial del prosencéfalo, zonas límbicas, talámicas y corticales.



5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1C</sub>, y hasta 5-HT<sub>7</sub>. La activación de los receptores 5-HT produce cambios a través de segundos mensajeros acoplados a la fosforilación de moléculas intracelulares, a excepción del receptor 5-HT<sub>1A</sub> que está acoplado a canal de cloro (Cl<sup>-</sup>).

### IMPLICACIONES DEL SISTEMA SEROTONÉRGICO EN LA MOTIVACION Y LA EMOCION

En el SNC de los mamíferos, la 5-HT está implicada en la regulación de la temperatura corporal, la presión sanguínea y la secreción endocrina, en el control de los estados de sueño y vigilia, y en el ánimo, las emociones, la alimentación, la conducta sexual, algunos tipos de depresión, la conducta suicida y ciertos estados alucinatorios inducidos por drogas.

Con respecto a este último punto, durante mucho tiempo se sugirió la participación de la 5-HT en la psicosis, principalmente en la esquizofrenia. En esta patología es común encontrar alteraciones en las conductas motivadas como consecuencia de las alteraciones que presentan los pacientes, es decir, los individuos esquizofrénicos perciben estímulos que no están presentes pero que constituyen su realidad, como el escuchar voces, en ocasiones imperativas, otras veces perciben olores que se transforman en delirios de que otros intentan asesinarlos, quizá con algún gas venenoso. Además, se debe agregar la presencia de un desgano notable, completa falta de iniciativa incluso en las tareas más simples de higiene y aseo personal, una franca tendencia hacia aislarse de la familia y la sociedad y, por último, la desmotivación persistente con respecto a prácticamente toda situación.

Ciertas sustancias llamadas alucinógenas puesto que contienen en su estructura el núcleo indol o incluso la estructura completa de la 5-HT, son potentes alucinógenos, como la psilocina y la psilocibina, alcaloides contenidos en ciertas especies de hongos. Algunos derivados metilados de la triptamina, es decir, los individuos esquizofrénicos perciben estímulos que no están presentes pero que constituyen su realidad, como el escuchar voces, en ocasiones imperativas, otras veces perciben olores que se transforman en delirios de que otros intentan asesinarlos, quizá con algún gas venenoso. Además, se debe agregar la presencia de un desgano notable, completa falta de iniciativa incluso en las tareas más simples de higiene y aseo personal, una franca tendencia hacia aislarse de la familia y la sociedad y, por último, la desmotivación persistente con respecto a prácticamente toda situación.

Ciertas sustancias llamadas alucinógenas puesto que contienen en su estructura el núcleo indol o incluso la estructura completa de la 5-HT, son potentes alucinógenos, como la psilocina y la psilocibina, alcaloides contenidos en ciertas especies de hongos. Algunos derivados metilados de la triptamina, es decir, los individuos esquizofrénicos perciben estímulos que no están presentes pero que constituyen su realidad, como el escuchar voces, en ocasiones imperativas, otras veces perciben olores que se transforman en delirios de que otros intentan asesinarlos, quizá con algún gas venenoso. Además, se debe agregar la presencia de un desgano notable, completa falta de iniciativa incluso en las tareas más simples de higiene y aseo personal, una franca tendencia hacia aislarse de la familia y la sociedad y, por último, la desmotivación persistente con respecto a prácticamente toda situación.

Existe una fuerte evidencia de la función inhibitoria que ejerce la 5-HT sobre la alimentación. De manera que los fármacos que aumentan la actividad serotoninérgica suprimen el consumo de alimento. Así, la 5-HT y los fármacos que liberan 5-HT (p. ej., fenfluramina y dexfenfluramina) o bien inhibidores selectivos en la recaptura de 5-HT (p. ej., fluoxetina, fluvoxamina y sertralina) facilitan los mecanismos serotoninérgicos y reducen el apetito al actuar sobre los receptores 5-HT<sub>1A</sub>. Por el contrario, la administración de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> (p. ej., buspirona o gepirón) reduce la liberación de 5-HT a nivel presináptico y provoca hiperfagia.

R

Cuadro 3-3. Subtipos de receptores serotoninérgicos

Receptor y subtipos	Características	Localización	Función central
5-HT1A	Subactivación inhibe la adenilato ciclasa	Presináptica y postsináptica. Núcleo del rafe dorsal, capa CA1 del hipocampo, núcleo post-lateral, corteza cerebral, hipotálamo, sistema ganglioso de la médula espinal, bulbo olfatorio y ganglios basales amigdalinos.	Fiebre autotérmica, termorregulación, conducta sexual, memoria, control de la ingesta de alimentos, aprendizaje y análisis de información de manera importante en la ansiedad y en la depresión.
B	Inhibe adenilato ciclasa	Autoreceptor. Sistema límbico, corteza palida y subículo dorsal, CA1 del hipocampo, corteza olfatoria, cerebelo.	Su estimulación causa ansiedad en ratas. También está implicado en el comportamiento agresivo.
C	Incrementa el recambio de fosfato inositol	Pérez condado, núcleo olfatorio anterior, amígdala, tuberculo lateral, núcleo subfornical, sustancia negra, núcleo accumbens, corteza olfatoria piramidal, ganglios basales y en las serotonérgicas descendentes.	Empobreces su estimulación causa hipotagay ansiedad.
D	Inhibe adenilato ciclasa	Autoreceptor. Núcleo caudado, sustancia negra y en la capa IV de la corteza cerebral prefrontal e hipocampo.	Posible implicación en el mecanismo de acción de algunos antiepilépticos.
E	Inhibe adenilato ciclasa	En las capas CA1, CA2, CA3 del hipocampo, en el caudado putamen.	No se conoce.
5-HT2A	Activa el recambio de fosfatidinositol	Áreas corticales 6, 10, 18, 19, 22, 24 y 46 del área 1, hipocampo, amígdala, núcleo accumbens, hipotálamo.	En la fisiopatología de diversos trastornos neuropsiquiátricos: esquizofrenia, trastornos del estado de ánimo y comportamiento suicida.
B	Activa el recambio de fosfatidinositol	Corteza y sistema límbico.	Empobreces su estimulación causa ansiedad, hiperfagia y reducción del sueño. Involucrado en la fisiopatología de la migraña.
C	Estimula recambio de inositol 1, 4, 5-trifosfato.	Formación de supratentorial.	Involucrado en el desarrollo de la vulnerabilidad a la depresión, actividad exploratoria y promoción de funciones hipocámpicas.
5-HT3	Activa la guanilato ciclasa cAMP dependiente	Corteza entorrinal, núcleo accumbens, núcleo amigdalino central, capa piriforme externa del bulbo olfatorio, hipocampo, en el estriado ventral.	Modula la actividad dopaminérgica central. Liberación de acetilcolina, ansiedad y depresión, aprendizaje y memoria.
5-HT4	Estimula adenilato ciclasa	Hipocampo y, específicamente, en los colículos, ganglios basales, núcleo accumbens.	Probablemente involucrado en la enfermedad de Alzheimer y en la ansiedad.
5-HT5A	Acoplado a proteínas G <sub>i</sub> e inhibe la adenilato ciclasa	Capas I-IV de la corteza cerebral, hipocampo, tuberculo lateral, bulbo olfatorio, capa granular del cerebelo, giro dentado.	Modula la actividad neuronal del circuito involucrado en la actividad exploratoria y algunos efectos contrarios de LSD.
B	Acoplado a proteínas G	Habenula medial, capas CA1 del hipocampo.	No se conoce.
5-HT6	Acoplado a adenilato ciclasa via proteínas G	Sistema límbico, amígdala, núcleo accumbens, hipocampo, tuberculo olfatorio, en el estriado.	Ansiedad y depresión.
5-HT7 h-5HT7a h-5HT7b	Estimula adenilato ciclasa	Hipotálamo, tálamo, hipocampo, tallo cerebral, núcleo supraquiasmático.	Posiblemente involucrado en el control de los ritmos circadianos.

Tal es la razón por la que la fenfluramina, un agonista serotoninérgico, es comúnmente utilizada en el tratamiento de la bulimia nerviosa (del griego *buis* "buey" y *limós* "hambre"), desorden que consiste en consumir alimento de manera excesiva e inducir después el vómito, o que a veces involucra el uso indiscriminado de laxantes, todo ello aunado a sentimientos de depresión y culpa. También este fármaco se emplea en personas obesas que intentan perder peso. Esta droga parece ejercer sus efectos al facilitar los receptores de 5-HT en el hipotálamo, principalmente en el núcleo paraventricular. Los medicamentos que destruyen las neuronas serotoninérgicas o que bloquean sus receptores, tienen un efecto opuesto, pues aumentan el deseo de ingerir alimentos. Además de ello, la administración de triptofano, el precursor de la 5-HT también disminuye el consumo de alimentos en ratas.

La 5-HT es uno de los neurotransmisores específicamente más relacionado con los mecanismos neurobiológicos de los comportamientos sociales y agresivos. Toda conducta agresiva tiene como propósito establecer jerarquías en un grupo para controlar recursos del tipo de territorios, comida o parejas sexuales. Muchos estudios han demostrado que las ratas de laboratorio despliegan bruscamente una conducta muricida (amiquilamiento de ratones con ferocidad) después de que han sido lesionadas en los núcleos del rafe con las neurotoxinas 5,6 o 5,7-dihidroxitriptamina, las cuales destruyen las terminales serotoninérgicas y disminuyen el contenido de 5-HT en esas neuronas. De modo notable, la administración de drogas que inhiben la síntesis de 5-HT, como la paraclorofenilalamina (PCPA), la cual bloquea la enzima limitante triptofano hidroxilasa, reducen la 5-HT circulante y la eliminación urinaria de 5-HAA, promoviendo la agresividad.

Además, las drogas que facilitan la transmisión serotoninérgica, al inhibir la recaptura de 5-HT por la terminal presináptica (p. ej., fluvoxamina o fluovetina), tienen un efecto inhibitorio al reducir los componentes ofensivos de la agresión en animales de laboratorio evaluados en diversos modelos experimentales de agresión. Estas observaciones sustentan el hecho de que actualmente se utilizan inhibidores sericitivos de la recaptura de 5-HT en el tratamiento de los desórdenes conductuales cuyos procesos motivacionales se encuentran distorsionados, como es el caso de la personalidad antisocial, trastorno en el que el individuo dirige su conducta agresiva y violenta hacia otras personas e incluso hacia sí mismo, como sucede con la persona deprimida que intenta el suicidio. Una característica común en estos pacientes es que tienen niveles reducidos del principal metabolito de la 5-HT (5-HAA), aunado a niveles elevados de impulsividad y comportamientos autodestructivos.

En pacientes deprimidos se ha encontrado la correlación entre el estado de ánimo abatido y la falta de motivación con la disminución en el contenido del 5-HT cerebral y de 5-HAA en el líquido cefalorraquídeo y en la orina. Algunos fármacos que aumentan la 5-HT cerebral reducen los síntomas depresivos, aunque el éxito clínico depende del tratamiento farmacológico empleado, del tipo de depresión y de la sensibilidad del individuo.

El uso de un modelo animal para el estudio experimental de la depresión, como la prueba de nado forzado, permite establecer una correlación entre los cambios en la actividad serotoninérgica y la conducta motivada. Se ha observado que existe un predominio de la conducta de inmovilidad asociado con una reducción en los niveles extracelulares de 5-HT en estructuras límbicas como el núcleo septal. En concordancia, cuando las ratas son pretreatadas con fluovetina, durante la prueba de nado forzado los valores extracelulares de 5-HT se incrementan significativamente y se reduce la inmovilidad. Asimismo, el sistema serotoninérgico parece estar involucrado en la ansiedad, ya que diversos fármacos agonistas 5-HT<sub>1A</sub>, como buspirona, ipsapirona y pepromid, han mostrado tener propiedad ansiolítica evaluada tanto a nivel experimental como clínico.

En conclusión, el sistema serotoninérgico se encuentra involucrado en diversos procesos neuropatológicos de enfermedades psiquiátricas, así como en múltiples funciones relacionadas con aspectos motivacionales de la conducta, lo cual permite entender algunos de los procesos neurobiológicos que los subyacen.

## OPIOIDES ENDÓGENOS

Los opioides endógenos constituyen una familia de péptidos que fueron descritos por vez primera en 1975 por Hughes y Kosterlitz. La palabra "endógeno" hace referencia a que se producen dentro del organismo, en tanto que "opioides" a que algunas de las primeras observaciones sugirieron que sus acciones eran semejantes a las de las drogas derivadas del opio -- como la morfina --, las cuales ejercen principalmente acciones analgésicas y hedónicas; además de estar relacionadas con procesos motivacionales asociados con la adicción a las drogas.

Hasta el momento se ha identificado a tres familias de péptidos endógenos: encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Cada una deriva de un péptido precursor diferente y presenta una distribución característica en el cerebro. Los precursores inmediatos son: proencefalina, proenkefalina y prodinorfina, respectivamente. Cada uno de estos péptidos endógenos codifican con receptores particulares y ejercen funciones específicas en el SNC (cuadro 3-4).

Cuadro 3-4. Receptores a opioides

Receptor	Ligando prototipo	Función
$\mu$ (mu) $\mu 1$	Morfina y la mayoría de los péptidos opioides	Analgésia supraespal Liberación de prolactina Euforia
$\mu 2$	Morfina	Depresión respiratoria Reducción del tránsito intestinal Efectos cardiovasculares Recambio de dopamina en el SNC Ingesta
$\delta$ (delta)	Encefalinas y analéogs pentapéptidos	Analgésia espinal Recambio de dopamina en el SNC
$\kappa$ (kappa)	Ketociclazocina Pentazocina	Analgésia espinal Inhibición de la liberación de la hormona antidiurética Euforia Efectos psicomiméticos de desorientación y despersonalización Sedación Recambio de dopamina en el SNC
$\epsilon$ (epsilon)	Endorfina	Analgésia

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## IMPLICACIÓN DE LOS OPIOIDES EN LA MOTIVACIÓN Y LA EMOCIÓN

Las propiedades psicotrópicas de los opioides han sido ampliamente estudiadas, así como la distribución regional de sus receptores en el SNC. En estos estudios se encontró que los opioides pueden modificar la actividad de las neuronas dopaminérgicas mesolímbicas que participan en la regulación de la conducta motora asociada con un evento motivado, asimismo, se les ha relacionado con varios aspectos del desarrollo de la dependencia a drogas potencialmente adictivas.

Las encefalinas y las endorfinas son sustancias que se producen en el organismo y provocan una acción farmacológica semejante a la morfina (analgesia y algunos efectos placenteros), efecto que es antagonizado por la naloxona. Tanto la morfina como las encefalinas actúan sobre receptores altamente específicos que se encuentran en estructuras del sistema límbico: talamo, hipotálamo, cuerpo estriado, mesencéfalo y médula espinal, principalmente. Estos sitios tienen una participación muy importante en la percepción del dolor, en la modificación del estado de ánimo y en algunos aspectos motivacionales del individuo; por ejemplo, los soldados que son heridos en combate informan no haber sentido dolor, al menos mientras se encuentran en peligro. La explicación que se ha dado a este tipo de eventos, sugiere que durante estas situaciones se promueve la liberación de encefalinas en el cerebro, las cuales a su vez ocupan los receptores de los opioides y activan los mecanismos descendentes de inhibición del dolor.

Los sucesos naturales que también son capaces de promover este tipo de analgesia incluyen el estrés y el miedo. Estos eventos desencadenan la liberación de encefalinas, de modo que también pueden activar los mecanismos que inhiben la percepción del dolor. Asimismo, el cerebro es capaz de sintetizar y liberar encefalinas y endorfinas durante el ejercicio, las cuales de cierto modo promueven un efecto placentero y motivacional en el individuo, lo que le induce a seguir ejercitándose.

De igual manera, también frente a actividades cotidianas como la alimentación y la actividad sexual se liberan en el cerebro este tipo de sustancias, ejerciendo un efecto placentero que al parecer se relaciona con algunos aspectos motivacionales y emocionales de la conducta. Por otra parte, la administración directa de opioides en el cerebro puede ser utilizada como un reforzador positivo. En síntesis, este grupo de sustancias participa por lo menos en la analgesia y en ciertas actividades hedónicas, que son solo dos de los muchos efectos que tienen el opio y sus derivados; sin embargo, por motivos históricos se ha mantenido el término opioide.

## NEUROESTEROIDES

La ansiedad es una de las enfermedades relacionadas con alteraciones en la emoción cuya incidencia en la población mundial va en aumento, de ahí la preocupación existente por establecer algún control sobre ella. Desde hace milenios al opio se le atribuyen propiedades ansiogénicas, antiespasmódicas, analgésicas y ansiolíticas. Sin embargo, hasta 1947 Sternback logró la síntesis del clonazepóxido, puesto en circulación en 1958, lo cual dio origen a una industria dedicada a manejar la ansiedad con mayor eficacia y con menos

efectos colaterales. El meprobamato introducido por Berger en 1954, por ejemplo, resultó ser un excelente ansiolítico y, por esta razón, poseía una elevada potencia adictiva, lo que constituye el principal efecto adverso de los ansiolíticos.

Los diversos fármacos ansiolíticos ejercen sus acciones a través del sistema GABAérgico, el cual también ha sido involucrado en alteraciones del estado de ánimo así como en las acciones de las hormonas esteroidales. Estas últimas, durante algún tiempo fueron relacionadas exclusivamente con funciones reproductivas. Sin embargo, en la actualidad se reporta que las hormonas esteroidales ejercen efectos sobre algunas estructuras del SNC involucradas en diversos aspectos motivacionales de la conducta, por lo que han sido propuestas como neuromoduladoras del estado de ánimo.

Las hormonas esteroidales participan en el desarrollo, el crecimiento, la maduración y la diferenciación sexual del SNC y sistema nervioso periférico, en mecanismos de retroalimentación, activación de vías neurales, así como en la modulación de conductas reproductivas y no reproductivas. Las hormonas esteroidales, dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas y de su concentración, pueden mejorar o deteriorar el funcionamiento neuronal. Los esteroides que interactúan con receptores intracelulares pueden modificar la expresión de enzimas y receptores en estructuras neuroendocrinas específicas. Sin embargo, en años recientes se ha demostrado que los esteroides también interactúan con receptores de membrana, lo que tiene como consecuencia cambios en la excitabilidad neuronal. Se supone que estas acciones constituyen el mecanismo a través del cual los ejes hipotalámico-hipofisiario-gonadao-hipotalámico hipofisiario suprarrenal ejercen control sobre procesos metabólicos, conductuales, cognitivos y motivacionales.

Las hormonas esteroidales secretadas por las gonadas y por las glándulas suprarrenales atraviesan la barrera hematoencefálica para actuar sobre el SNC<sup>1</sup>; reciben el nombre de esteroides neuroactivos. Sin embargo, el cerebro de la rata posee sistemas enzimáticos encargados de la producción de hormonas esteroidales a partir del colesterol o de sus precursores que ingresan al SNC<sup>2</sup> que, en conjunto, se denominan neuroesteroides, los cuales pueden estar, como neuroesteroides no conjugados (libres), conjugados o ambos, en forma de sulfatos o de ésteres de ácidos grasos. Las diferentes formas de esteroides han sido propuestas como participantes en la regulación del estrés y la ansiedad.

## SÍNTESIS

La síntesis de neuroesteroides se inicia a partir del colesterol, el cual es biotransformado a pregnenolona (PREG) en las células gliales misma que a su vez da origen a progesterona. Posteriormente, en el sistema PREG, estos compuestos son reducidos de manera irreversible y generan los metabolitos diacetilprogesterona (DHP) y dihidrodesoxiacetacosterona (DHDAC), los cuales pueden ser reducidos a los metabolitos neuroactivos allopregnenolona (APP) y tetrahidrodesoxiacetacosterona (THDAC). El contenido cerebral de la hormona dihidroepiandrosterona (DHEA) es independiente de glándulas esteroideogénicas periféricas, y aun cuando su origen es desconocido, se sabe que es un metabolito de la pregnenolona. Por otra parte, la progesterona se biotransforma a androstenediona (AD) que, a su vez, da origen a la testosterona (T), la cual forma estradiol mediante las enzimas aromatasas. Recientemente también se ha detectado la presencia de PREG y DHEA en forma de sulfato (figura 3, 6).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

W

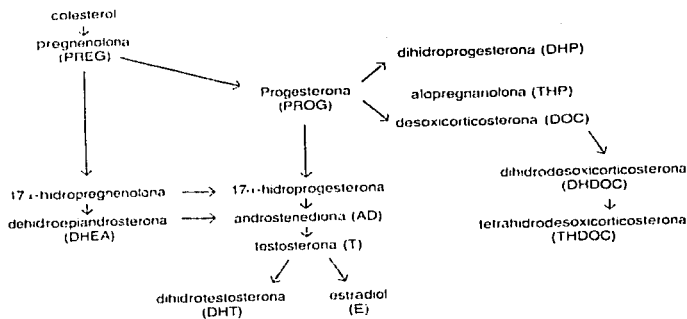


Figura 3-6. Síntesis de neuroesteroides.

## IMPLICACIÓN DE LOS NEUROESTEROIDES EN LA MOTIVACIÓN Y LA EMOCIÓN

Las hormonas esteroidales actúan en varias áreas cerebrales, su mecanismo de acción involucra la activación de receptores de membrana, lo cual promueve cambios inmediatos en la excitabilidad neuronal, en tanto que la interacción con receptores nucleares tiene como consecuencia modificaciones sobre la síntesis de proteínas. Lo anterior explica la capacidad de las hormonas esteroidales para producir modificaciones a corto y largo plazo en algunos sistemas de neurotransmisión.

Los esteroides neuroactivos y los neuroesteroides pueden actuar a nivel neuronal sobre diferentes tipos de receptores de membrana: a) receptores para neurotransmisores, sobre los cuales ejercen una modulación alostérica; b) receptores de membrana acoplados a proteínas G, c) mediante sitios específicos de membrana utilizando al calcio como mensajero intracelular. Sin embargo, se sugiere otra posibilidad, aquella que involucra la interacción de los neuroesteroides con receptores de neuropeptidos unidos a la membrana (cuadro 3-5).

Los neuroesteroides ejercen sus principales acciones modificando la funcionalidad del sistema GABAérgico. El ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) se produce a partir del ácido L-glutámico y es el principal inhibidor del SNC al producir hiperpolarización de las neuronas postsinápticas incrementando el flujo de iones cloro hacia el interior de la célula. Los receptores GABAérgicos se clasifican en 1) el GABA<sub>A</sub>, que es un receptor postsináptico ionotrópico que está acoplado a un canal de cloro, posee sitios alostéricos para benzodiazepinas, barbitúricos y posiblemente neuroesteroides y 2) el GABA<sub>B</sub>, que es un receptor metabotrópico acoplado a segundos mensajeros, su activación induce una hiperpolarización que podría ser provocada por la salida de iones K<sup>+</sup> o bien por el cierre de canales de calcio.

Hacia 1980, se demostró que los neuroesteroides THP y THDOC modifican la excitabilidad neuronal por interacción con el receptor GABA<sub>A</sub> e incrementan el ingreso de iones

**Cuadro 3-5. Acciones de los neuroesteroides**

Nombre	Receptor	Efectos
Pregnenolona	Agonista GABAérgico	Mejora la memoria, disminuye los síntomas del SPM
Sulfato de pregnenolona	Antagonista GABAérgico Modulador positivo NMDA	Mejora la memoria.
Progesterona	Agonista GABAérgico	Sedante, ansiolítico, antiagresión, antidepresivo, facilita conducta sexual (apareamiento), mejora la sintomatología de SPM
Dihidroprogesterona	Agonista GABAérgico	Disminuye los síntomas del SPM
Alopregnanolona	Agonista GABAérgico	Anestésico, ansiolítico, antiagresión, anticonvulsivante, anticonflicto, atenúa la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal ante el estrés emocional, facilita el apareamiento, disminuye los síntomas del SPM
Tetrahidroxidesoxicorticosterona	Agonista GABA	Regula la respuesta al estrés
Testosterona	Receptor a andrógenos	Agresión, interacción social, ansiedad, regula la conducta sexual
Dehidroepiandrosterona	Antagonista GABA	Mejora la retención de memoria
Estradiol	Receptor para estrógenos	Incrementa la ansiedad, depresión; induce la conducta sexual

SPM, síndrome premenstrual

cloro provocado por el GABA. Algunos neuroesteroides son considerados moduladores alostéricos positivos del receptor GABA<sub>A</sub>, dado que incrementan la frecuencia y la duración de la apertura de los canales para el cloro. Las acciones que ejercen los neuroesteroides sobre el SNC dependen de los cambios en su conformación que sufren durante su biotransformación. Así, los metabolitos 3 $\alpha$  reducidos que contienen un grupo hidroxilo libre poseen una mayor efectividad para incrementar las acciones inhibitorias mediadas por el GABA, mientras que la hidroxilación en la posición 11 $\alpha$  y 12 $\alpha$  reduce considerablemente la actividad sobre el sistema GABAérgico. Dependiendo del grupo funcional que se encuentre en el carbono 17 de la serie de metabolitos 3 $\alpha$  reducidos, serán los efectos inhibitorios (17 $\beta$ -acetil > 17 $\beta$ -ciano > 17 $\beta$ -metoxycarbonyl > 17 $\alpha$ -acetil > 17 $\alpha$ -ona > 17 $\alpha$ -oxima o 17 $\alpha$ -ciano). La presencia de dobles enlaces entre los carbonos 9 y 11 también modifica la capacidad de los metabolitos para producir efectos inhibitorios mediados por el sistema GABAérgico.

Las alteraciones funcionales del sistema GABAérgico han sido relacionadas con los trastornos del estado de ánimo. Se ha sugerido que la depresión puede resultar de déficit GABAérgicos, esto se apoya en el hecho de que algunos pacientes deprimidos tienen bajas concentraciones plasmáticas de GABA, mientras que en sujetos sanos disminuye el número de receptores GABA<sub>A</sub>, y a que diversos fármacos con acciones agonistas sobre el GABA son, a la vez, excelentes anticonvulsivantes y poseen propiedades antidepresivas y ansiolíticas.



A lo largo de la vida reproductiva de la mujer, por otra parte, aparecen periodos en los que se exacerban la incidencia y gravedad de las alteraciones del estado de ánimo. Tal es el caso del periodo premenstrual, del posparto y de la menopausia, los cuales se caracterizan por la presencia de depresión y ansiedad, lo que coexiste con valores bajos de hormonas gonadales. Por el contrario, durante la ovulación y a partir del segundo tercio del embarazo, cuando las concentraciones hormonales gonadales están elevadas, las mujeres reportan una mejoría en su estado de ánimo. Esto ha llevado a proponer que las hormonas esteroidales son neuromoduladoras del estado de ánimo y que sus acciones están mediadas, al menos parcialmente, por el sistema GABAérgico.

Durante algún tiempo, la única función asignada a la progesterona fue como responsable del establecimiento de los caracteres sexuales femeninos, sin embargo, ahora se sabe que en animales de experimentación la progesterona y otras progestinas (precursores y metabolitos de la progesterona) inducen anestesia, analgesia e hipnosis por acciones directas sobre el receptor GABA<sub>A</sub>. En modelos animales empleados para evaluar de ansiedad, se ha encontrado que la progesterona ejerce un efecto ansiolítico, el cual se atribuye principalmente a sus metabolitos reducidos, como la THP.

La progesterona mejora la ejecución de pruebas conductuales útiles para evaluar la potencia de fármacos antidepressivos (pruebas de nado forzado y suspensión del rabo). En las hembras existe una correlación positiva entre las concentraciones de progesterona y la capacidad del animal para resolver la situación de apremio que enfrenta, por tanto, la progesterona se comporta como un ansiolítico y antidepressivo endógeno, esto concuerda con los hallazgos clínicos. Por otra parte, en la rata macho se sugiere una relación positiva entre la desesperanza conductual y los niveles plasmáticos de testosterona, aunque el responsable directo podría ser el estradiol.

El estradiol es la hormona más potente para restaurar tanto la conducta sexual como la fisiología vaginal característica durante la fase de estró. Los estrógenos por sí mismos inducen la conducta de estró, pero este efecto se presenta con mayor intensidad cuando los animales no preñadas con estradiol reciben una inyección de progesterona. Esto es importante, si se considera que la expresión de la conducta reproductiva involucra un componente motivacional, el cual podría estar mediado por la combinación estradiol-progesterona. Lo anterior puede explicarse considerando la capacidad del estradiol para activar receptores a progesterona y modificar la expresión de receptores GABAérgicos. La ovariectomía incrementa hasta cinco veces el número de estos receptores en el hipotálamo mediobasal, el área preoptica medial, la amígdala cortico-medial y la corteza cerebral, mientras que el tratamiento con estradiol y progesterona restaura los valores en la concentración de receptores GABAérgicos a los presentados antes de la cirugía.

El sistema nervioso inicialmente es asexual. Los receptores al estradiol se desarrollan en ambos sexos, pero en el macho la testosterona es convertida a estradiol en el cerebro y la formación del complejo estradiol-receptor es trasladado al núcleo de la célula, donde regula la transcripción genética que organiza el cerebro del macho. En la rata macho adulta, el aporte de testosterona está dado por la gónada y las glándulas suprarrenales.

La enzima aromatasas o estrógeno sintetasa que cataliza la conversión de andrógenos a estrógenos, está presente en el SNC de los vertebrados, además de ser abundante en la placenta y el testículo gonadal. La aromatación de andrógenos a estrógenos en el SNC es necesaria para el desarrollo y la manifestación de muchas conductas y respuestas endocrinas en animales adultos. Existen dos sistemas neuronales de aromatasas, el hipotalámico o diencefálico, el cual desaparece 10 días después de la gonadectomía en la rata, y el sistema

telencefálico subcortical o límbico, que no se modifica con dicho procedimiento. El primero parece participar en conductas reproductivas dependientes de estrógenos, mientras que el sistema telencefálico está relacionado con la modulación de conductas motivacionales sensibles a hormonas esteroidales.

Además de las interacciones ya mencionadas entre neuroesteroides y el sistema GABAérgico, las hormonas esteroideas promueven la expresión de receptores a 5-HT. En efecto, la concentración de 5-HT y de diferentes subtipos de receptores a 5-HT y la respuesta a los agonistas serotoninérgicos varía de acuerdo con los cambios de secreción de las hormonas gonadales. Los efectos de las hormonas gonadales son regulados por 5-HT. Ciertas conductas como la agresión y la reproducción, son moduladas tanto por 5-HT como por las hormonas gonadales. Adicionalmente, se ha demostrado que los estrógenos administrados de manera exógena modulan la transcripción de diferentes subtipos de receptores 5-HT. Así, los efectos de los principales neuroesteroides en la conducta son múltiples, con algunas acciones directas y otras que se establecen por la interacción con otros neurotransmisores, particularmente la 5-HT. En el cuadro 3 se encuentran resumidas las acciones de los neuroesteroides.

## CONCLUSIÓN

El Papiró de Ebers (1600 a.C.) constituye el primer reporte de que las enfermedades tienen un origen natural y que no son el producto de demonios o alguna otra influencia extrahumana. Asimismo, el empleo de sustancias naturales con propósitos claros de alterar el proceso de pensamiento data de miles de años, tal es el caso del hashish en Asia y del teonanacatl, el hongo mágico empleado en Mesoamérica. Lo más interesante del caso es definir como estas experiencias han conducido al conocimiento de los mensajeros químicos implicados en la conducta y la forma de modificarlos funcionalmente. Lo primero ha dado origen al conocimiento del sustrato de las emociones y de la motivación, en tanto que lo segundo ha proporcionado procedimientos que permiten controlar la mayor parte de las alteraciones del conglomerado de enfermedades que en un tiempo fueron conocidas simplemente como "locura".

En síntesis, el estudio de las acciones de diversos compuestos sobre la química cerebral y sus repercusiones conductuales es una herramienta que hace posible la comprensión de los procesos sinápticos involucrados en determinadas partes del comportamiento, mientras que la aplicación de estos conocimientos a la terapéutica, permite elaborar procedimientos cada vez más eficaces e inocuos para el control de las alteraciones de la conducta que ponen en peligro al individuo y a su entorno.

## LECTURAS RECOMENDADAS

- Bahena-Trujillo, R., Flores, G., Arias-Montaño, J. A. (2000) Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Revista Biomedica*, 11: 39-60.
- Buhol, M. C. (1997) Serotonin receptors in cognitive behaviors. *Current opinion in Neurobiology* 7: 243-254.
- Connor, T. J., Kelliher, P., Harkin, A., Kelly, J. P., Leonard, B. E. (1999) Reboxetine attenuates forced swim test-induced behavioral and neurochemical alterations in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 379: 128-133.



- Contreras, C. M., Molina, M., Saavedra, M., Martínez-Mota, L. (2000) Lateral septal firing rate increases during proestrus estrus in the rat. *Physiology and Behavior*, 68: 279-284
- Di Chiara, G. (1995) Psychobiology of the role of dopamine in drug-abuse and addiction. *Neuroscience Research Communications*, 17: 133-143.
- Emilien, G., Maloteaux, J. M., Geurts, M., Hoogenberg, K., Cragg, M. (1999) Dopamine receptors-physiological understanding to therapeutic intervention potential. *Pharmacology and Therapeutics*, 84:133-156
- Fillenz, M. (1990) *Nonadrenergic neurons*. New York: Cambridge University Press.
- Frazer, A. (2000) Norepinephrine involvement in antidepressant action. *Journal of Clinical Psychiatry*, 61 (Suppl 10): 25-30.
- Insel, P. A. (1996) Adrenergic receptors-evolving concepts and clinical implications. *New England Journal of Medicine*, 334: 580-585.
- Jakab, R. L., Horvath, T. L., Leranth, C., Harada, N., Naftolin, F. (1993) Aromatase immunoreactivity in the rat brain gonadectomy sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive "limbic ring" of the lateral septal bed nucleus amygdala complex. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 44: 481-498.
- Legg, C. R., Booth, D. A. (1994) *Appetite, neural and behavioral bases*. Oxford: Oxford University Press.
- Luick, I. (1998) The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biological Psychiatry*, 44: 151-162.
- Majewska, M. D. (1992) Neurosteroids: endogenous bimodal modulators of the GABA<sub>A</sub> receptor. Mechanism of action and physiological significance. *Progress in Neurobiology*, 38: 379-395.
- Mason, S. T. (1984) *Catecholamines and behaviour*. Oxford: Cambridge University Press
- McEwen, B. S., Parsons, B. (1982) Gonadal-steroid action on the brain: neurochemistry and neuropharmacology. *Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology*, 22: 555-598
- McEwen, B. S. (1991) Non genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *Trends in Pharmacological Sciences*, 12: 141-147
- Mensah-Nyagan, A. G., Du-Rego, J. L., Beaujean, D., Liu-The, V., Pelletier, G., Vaudry, H. (1999) Neurosteroids: expression of steroidogenic enzymes and regulation of steroid biosynthesis in the central nervous system. *Pharmacological Reviews*, 51(1): 63-81
- Müller, E. E., Nisiewicz, G. (1989) *Brain Messengers and the Pituitary*. United States of America: Academic Press
- Palacios, J. M., Mengod, G., Hoyer, D. (1993) Brain Serotonin receptor subtypes: radioligand binding assays, second messengers, ligand autoradiography, and in situ hybridization histochemistry. In: Conn P. M. (ed) *Receptors: molecular biology, receptor subtypes, localization, and ligand design*. Methods in Neurosciences, Vol. 17. San Diego, CA: Academic Press, INC., 238-262.
- Pearlstein, T. B. (1995) Hormones and depression: what are the factors about the premenstrual syndrome, menopause, and hormone replacement therapy? *American Journal of Obstetrics Gynecology*, 173: 636-653
- Rampin, O. (1999) Pharmacology of alpha<sub>1</sub> adrenoceptor: or male sexual function. *European Urology*, 36 (Suppl 1): 103-106
- Rodríguez-Landa, J. E., Contreras, C. M. (2000) Los fármacos antidepressivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Archivos de Neurociencias (Méx)*, 5: 73-83
- Ropprecht, R. (1997) The neuro-psychopharmacological potential of the neuroactive steroids. *Journal of Psychiatry Research*, 31: 297-314
- Schmidt, A. W., Peroutka, S. J. (1989) 5-Hydroxytryptamine receptor families. *FASEB J* 3: 2242-2249.
- Wilson, C., Nomicos, G. G., Collu, M., Fibiger, H. C. (1995) Dopaminergic correlates of motivated behavior: importance of dose. *Journal of Neuroscience*, 15: 5469-5478

## APÉNDICE II

Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG, Contreras CM. Implicación del núcleo accumbens y del sistema dopaminérgico en las acciones neurofarmacológicas de las terapias antidepressivas. *Psicología y Salud* 2001, 11(1):175-186.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Implicación del núcleo accumbens y del sistema dopaminérgico en las acciones neurofarmacológicas de las terapias antidepressivas<sup>1</sup>

*Implication of nucleus accumbens and dopaminergic system in the neuropharmacological actions of antidepressant therapies*

Juan Francisco Rodríguez Landa<sup>2</sup>

Ana G. Gutiérrez García<sup>2</sup>

Carlos M. Contreras<sup>2</sup>

### RESUMEN

La depresión es una de las alteraciones psiquiátricas más frecuentes de cuya fisiopatología aún se desconocen diversos aspectos, así como las acciones de los fármacos utilizados para su control. En el paciente deprimido se han detectado alteraciones en los sistemas de neurotransmisión serotoninérgico y/o noradrenérgico, en tanto que las acciones farmacológicas de los antidepressivos se han descrito básicamente sobre dichos sistemas. Aunado a lo anterior, hay otras evidencias que sugieren que el sistema dopaminérgico también podría estar implicado en la fisiopatología de la depresión dado que en algunos pacientes deprimidos con marcado retardo psicomotor y conductas suicidas se encuentran disminuidas las concentraciones plasmáticas de dopamina y algunos de sus metabolitos, como el ácido dihidroxiacetilacético. En la investigación básica se ha encontrado que la administración de diversos antidepressivos aplicados por periodos prolongados incrementa las concentraciones extracelulares de dopamina, así como el número y la expresión del ARNm que codifica para los receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> en el sistema dopaminérgico mesolímbico, y en particular en el núcleo accumbens. En el presente trabajo se revisan algunas de las evidencias derivadas de estudios clínicos y experimentales que apoyan la idea de que el sistema mesolímbico y el núcleo accumbens parecen estar implicados en las acciones neurofarmacológicas de las terapias antidepressivas y, por tanto, en algunos aspectos de la sintomatología de la depresión.

*Palabras clave:* Núcleo accumbens; Dopamina; Depresión; Antidepressivos; Sistema mesolímbico.

<sup>1</sup> Los autores agradecen a Irene Matijuna y Warren Hand por revisar el resumen en el idioma inglés. Durante el desarrollo del presente trabajo, los dos primeros autores recibieron becas para estudios de posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con registros 124885 y 150025, respectivamente. Además, recibieron apoyos parciales del Programa de Becas Nacionales para E-Indios de Posgrado de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

<sup>2</sup> Laboratorio de Neurofarmacología del Instituto de Neurobiología, Universidad Veracruzana e Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 320, 91060 Xalapa, Veracruz, México, tel. (281)2-57-47, e-mail: cruce@biogm.investigaciones.univ.mx. Artículo recibido el 19 de enero de 2001 y aceptado el 14 de abril de 2001.

**SUMMARY**

*Depression is one of the most frequent psychiatric alterations, although diverse aspects of its physiopathology, as well as the actions of the drugs used for its control, are still unknown. Alterations in the serotonergic and/or noradrenergic neurotransmission systems have been detected in the depressed patient, while the pharmacological actions of antidepressants have been described on the basis of their effects on these neurotransmission systems. In addition to the foregoing, there is another evidence suggesting that the dopaminergic system may also be implicated in the physiopathology of depression, given that in some depressed patients with notorious psychomotor retard and suicidal behavior, the plasmatic concentrations of dopamine and some of its metabolites, such as the dihydroxyphenylacetic acid, are reduced. In basic research, however, it has been found that in the mesolimbic dopaminergic system, and in particular in nucleus accumbens, the administration of different antidepressants applied during long periods increases the extracellular concentrations of dopamine, as well as the number of dopaminergic receptors  $D_2$  due to the activation of RNAm. In this paper are reviewed some of the evidences derived from clinical and experimental studies which support the idea that mesolimbic system, especially the nucleus accumbens, may be implicated in some aspects of the symptomatology of depression, as well as in the neuropharmacological actions of antidepressant therapies.*

**Key words:** *Nucleus accumbens; Dopamine; Depression; Antidepressants; Mesolimbic system.*

**INTRODUCCIÓN**

La depresión es un trastorno altamente complejo que afecta a un porcentaje elevado de la población general, y, a pesar de los abundantes estudios clínicos y experimentales, aún se desconocen diversos aspectos implicados en la

fisiopatología de la depresión y en las acciones de las terapias farmacológicas utilizadas en su manejo.

Las acciones de los antidepressivos se han evaluado desde diferentes enfoques: desde el puramente conductual (Ferreira, Bonilla, Becerril y Velázquez, 1998; Porsolt, Anton, Blavet y Jaffre, 1978; Porsolt, Pichon y Jaffre, 1997) hasta el molecular (Bal-Klára y Bird, 1990; Rogoz y Dzedzicka-Wasyliwska, 1999; Roth, Hamblin y Ciaramello, 1990). En estos estudios se han identificado algunas estructuras cerebrales que al parecer son el sitio donde los antidepressivos ejercen sus acciones y que posiblemente también participan en la expresión de algunos síntomas de la depresión. Entre ellas se encuentran estructuras que integran el sistema límbico, como el hipocampo, la amígdala, el hipotálamo y los núcleos septales (cf. Contreras, Marván, Márquez y cols., 1990; Rodríguez y Contreras, 1998) que, en conjunto con otras estructuras, se consideran la base anatomofuncional de las emociones (Papez, 1937).

Existen evidencias que apoyan la teoría de que en la depresión subyacen alteraciones de los sistemas de neurotransmisión, principalmente del serotonérgico y del noradrenergico. Estas aseveraciones derivan de estudios clínicos en los que se han detectado niveles disminuidos de serotonina (5HT) y de su metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA), así como de noradrenalina en el líquido cefalorraquídeo de pacientes deprimidos (Owens y Nemeroff, 1994; Schildkraut, 1965), además de otros cambios de la afinidad y del número de receptores serotonérgicos en el cerebro de suerdas que cursaron por cuadros depresivos (Arango, Ernsberger, Marzuk y cols., 1990).

La mayoría de las acciones de los antidepressivos clínicamente efectivos se han descrito sobre los sistemas serotonérgico y noradrenergico, toda vez que la mayoría de estos fármacos inhiben la recaptura de 5-HT<sub>1</sub> de noradrenalina y, en otros casos, a la enzima monoamino-oxidasa (Baldezsam, 1991; Riedeter, Laux, Beckman y cols., 1988). Así, en cualquiera de tales casos se promueve una mayor disponibilidad de esos mensajeros químicos en la hendidura sináptica, lo que

B

Implicación del núcleo accumbens y del sistema dopaminérgico

al parecer se relaciona con sus acciones terapéuticas (Baldessarini, 1991).

Hoy día se dispone de antidepresivos que actúan selectivamente sobre determinados tipos de receptores; tal es el caso de la fluoxetina y sus análogos —como la fluvoxamina—, que inhiben selectivamente la recaptura de 5-HT (Fuller y Wong, 1977; Goodnick, 1991). No obstante, en estudios experimentales se ha encontrado que estos y otros antidepresivos administrados por periodos prolongados tienen la capacidad de activar al sistema dopaminérgico, particularmente la vía mesolímbica (Spiraki y Fibiger, 1981; Willner, 1997; Willner, Mustafá, Papp y Sampson, 1991). Entre las estructuras que conforman esta vía se encuentra el núcleo accumbens, al cual se le ha relacionado con la regulación y la expresión de la conducta motivada (Wilson, Nomikos, Collu y Fibiger, 1998) y con la farmacodependencia (Di Chiara, 1998). Recientemente, se ha encontrado que en este núcleo diversos antidepresivos modifican los niveles extracelulares de dopamina y la actividad de los receptores dopaminérgicos  $D_1$  y  $D_2$  (Ichikawa y Meltzer, 1995; See, Adams-Curtis y Chapman, 1992), lo que hace suponer su participación en las acciones neurofarmacológicas de los antidepresivos (Willner, 1997).

En el presente trabajo se revisarán algunas de las evidencias clínicas y experimentales que apoyan la hipótesis de que el sistema dopaminérgico mesolímbico —y en particular el núcleo accumbens— parecen estar implicados en las acciones de los antidepresivos y en algunos aspectos de la depresión.

### Generalidades del núcleo accumbens

El núcleo accumbens es una estructura perteneciente al sistema dopaminérgico mesolímbico que se origina en el mesencéfalo, más precisamente en los cuerpos celulares A10 localizados en el área tegmental ventral (Lindvall y Bjorklund, 1983). De esta área surgen eferencias dopaminérgicas que se dirigen a algunas estructuras del cerebro anterior como la corteza prefrontal y el tubérculo olfatorio, así como a otras estructuras del sistema límbico, tales como el septum lateral, los núcleos de la base de la estria terminal, la amígdala y el hipocampo, pero principalmente van hacia el núcleo accumbens, que es rico en terminales dopaminérgicas (Figura 1). A este último se le ha propuesto como una interfase entre las estructuras límbicas y el sistema motor

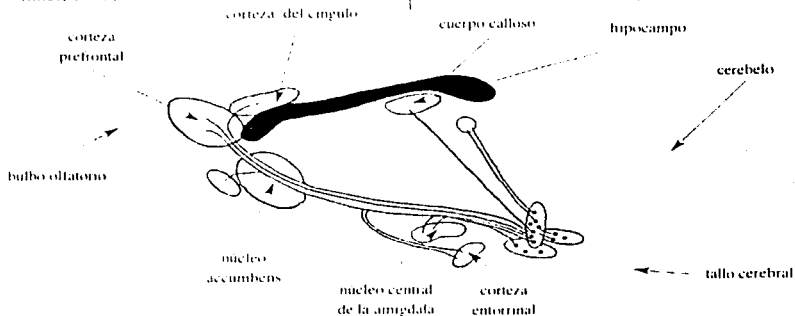


Figura 1. Esquema de un corte sagital del cerebro de rata donde se muestra al sistema dopaminérgico mesolímbico, que se origina en el área tegmental ventral (cuerpo celular A10), de donde parten fibras dopaminérgicas hacia estructuras tales como la corteza prefrontal, la corteza del cíngulo y el hipocampo, y hacia algunas estructuras mesolímbicas, principalmente al núcleo accumbens.

## TESIS CON FALLA DE ORIGEN

178

Psicología y salud, Vol. 11, Núm. 1

(Mogenson, Jones y Yim, 1980), que en su conjunto han sido involucrados en la regulación de la conducta motora asociada a eventos motivados (Wilson y cols., 1995; Mogenson, 1987; Fibiger y Phillips, 1988) y con el efecto adictivo de diversas drogas psicoactivas, como la cocaína, las anfetaminas y la morfina (Di Chiara, 1995; Nielsen y Scheel-Kruger, 1986).

En las ratas se ha observado que ante eventos placenteros como la alimentación o la actividad sexual, se incrementa la dopamina extracelular en el núcleo accumbens (Pfaus, Damsma, Domikos y cols., 1990; Wilson y cols., 1995); un efecto similar se observa con la administración de cocaína (Di Chiara, 1995). En contraparte, en los animales sometidos crónicamente a diversos estresores se observa el efecto contrario, y despliegan un alto déficit conductual en pruebas de escape ante un estímulo aversivo (Ghigliari, Gambarana, Seguir y cols., 1997); estos efectos son revertidos por la administración del antidepressivo imipramina, es decir, los animales no desarrollan el déficit conductual y las concentraciones de dopamina en el núcleo accumbens no difieren entonces de las de los animales control (Gambarana, Masi, Tagliamonte y cols., 1999). En este sentido, se cuenta con evidencias clínicas y experimentales de que diversos antidepressivos administrados por periodos prolongados activan el sistema dopaminérgico mesolímbico, lo que probablemente este relacionado con algunas de las acciones neurofarmacológicas de aquéllos (Willner, 1997).

### Acciones de los antidepressivos sobre el núcleo accumbens y el sistema dopaminérgico: estudios en el ser humano

Particularmente, al sistema serotoninérgico se le ha involucrado en el trastorno depresivo y en las acciones de los fármacos utilizados en su manejo. Este hecho se basa, por ejemplo, en que algunos pacientes deprimidos tienen niveles disminuidos de 5-HT y de 5-HIAA en el líquido cefalorraquídeo (Owens y Nemeroff, 1994; Schildkraut, 1965), en tanto que el tratamiento antidepressivo activa al sistema serotoninérgico (Baldessarini,

1991). Sin embargo, en algunos pacientes deprimidos se encuentra una disminución de las concentraciones plasmáticas de dopamina y sus metabolitos, específicamente en aquellos pacientes con un marcado retardo psicomotor (Hamner y Diamond, 1996) y conductas tendientes al suicidio (Roy, De Jong y Linnola, 1989).

La hipoactividad dopaminérgica pudiera ser una de las causas endógenas que explica la falta de motivación y la anhedonia, dos de los síntomas que caracterizan a un episodio depresivo mayor (Eber, Ferstel, Loew y Pirner, 1996; Kapur y Mann, 1992; Willner y cols., 1991). Los efectos clínicos de algunos fármacos que actúan sobre el sistema dopaminérgico son concordantes con el concepto dopaminérgico de la depresión ya que algunos inhibidores de la recaptura de dopamina —como la nomifensina y el bupropion— poseen efectos benéficos en el tratamiento de pacientes deprimidos (Serra, Collu, D'Aquila y cols., 1990).

Por otro lado, en estudios *post mortem* de cerebros de suicidas con diagnóstico retrospectivo de depresión, se detectó que las concentraciones de uno de los metabolitos de la dopamina, el ácido dihidroxiindolacético (DOPAC), está disminuido en el núcleo accumbens, el núcleo caudado y el putamen, al parecer como consecuencia de una disminución del recambio de dopamina en esas estructuras (Bowden, Cheetham, Lowther, Katona y Crompton, 1997). Sin embargo, no es posible excluir la posibilidad de que tal efecto se deba a la ingestión de una sobredosis de sustancias tóxicas puesto que dicho cambio se observó únicamente en las muestras de cerebro de los sujetos que murieron de forma no violenta (Bowden y cols., 1997). En otro caso, en el tejido cerebral de suicidas que padecieron depresión y que tuvieron tratamiento antidepressivo, el número de sitios de unión a los receptores D<sub>2</sub> fue significativamente más alto (21%), al igual que el número (30-49%) y la afinidad (95-110%) de los receptores D<sub>2</sub> en el núcleo accumbens, en comparación con las muestras de los cerebros de suicidas que no tuvieron tratamiento antidepressivo (Bowden, Theodorou, Cheetham y cols., 1997).

Se tienen otras observaciones recabadas en la clínica que sugieren la asociación entre los síntomas depresivos y el decremento de la neuro-



**TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN**

**Acciones de los antidepressivos sobre el núcleo**

**acumbens y el sistema dopaminérgico:**

**Estudios en animales de experimentación**

En animales de laboratorio se ha identificado que diversos antidepressivos ejercen algunos de sus acciones en estructuras ricas en terminales dopaminérgicas, como el núcleo accumbens, por lo que este núcleo parece estar implicado en las acciones farmacológicas de los antidepressivos (Cervo y Samanin, 1987; Collin, Fogelin, Devoso y Serra, 1997). Dichas acciones son aditivas a las ya conocidas en otros sistemas de neurotransmisión, como el serotoninérgico, el noradrenérgico y el GABAérgico (Duman, Heninger y Nestler, 1997; Kehr, 2000; Tannicht, Schindler, Cries y cols., 1999).

En la ratón, por medio de la técnica de microdialisis, se detectó que la hspirona, un agonista al receptor 5-HT<sub>1A</sub>, incrementa la dopamina extracelular en el núcleo accumbens, el caudado y la corteza prefrontal (Tanda, Carbon, Fran y Di Chiara, 1994); en estas dos últimas estructuras, la clomipramina y la fluoxetina también incrementan la concentración de este neurotransmisor (Tanda y cols., 1994). Sin embargo, la fluoxetina aplicada de manera aguda (dosis única de 10 mg/kg) disminuye la dopamina extracelular en el núcleo accumbens (dehikawa y Meltzer, 1995). La administración de los antidepressivos tricyclicos imipramina y clomipramina, en dosis de 10 mg/kg, incrementa significativamente la dopamina en el núcleo accumbens en más del 100% con respecto a los valores del grupo control (dehikawa y Meltzer, 1995); mientras que el tratamiento crónico con desmetilimipramina intensifica la liberación de dopamina en dicha estructura (Sze y cols., 1992). Luego en ratones, es posible proponer que la activación dopaminérgica en ciertas áreas cerebrales pudiera ejercer un papel esencial en las acciones de los antidepressivos clásicos y, por lo tanto, en el efecto terapéutico observado en la clínica.

En otro sentido, los animales sometidos a estrés crónico tienen disminuida la actividad del núcleo accumbens para los receptores D<sub>1</sub> en el área tegmental ventral; la sustancia negra, el

**transmisión dopaminérgica. Por ejemplo, los síntomas de depresión mayor preceden o acompañan a la disminución de dopamina en el sistema**

**mesolímbico. En pacientes que padecen el síndrome de Parkinson (Kapur, Minkvad y Fogel,**

**1975). Asimismo, los agonistas dopaminérgicos como la bromocriptina (Gómez, Perri y Leprie,**

**1979; Sridhar, Markes, Wells, Froehning, Chin y Brown, 1990), el protidolololol (Forst, Ballenger**

**y cols., 1986; Mouton, Lemaire y Minam, 1987) y**

**algunos fármacos escintilados que contribuyen al**

**incremento de dopamina, como el mirtazapina y**

**la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan, 1990),**

**parecen poseer algunas propiedades antidepressivas**

**(Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad, 1997; Minkvad,**

**1992; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**del salmofide (75 mg/día) en un ensayo clínico**

**(Sridhar, Markes y cols., 1991) tiene propiedades antidepressivas**

**(Sridhar, Markes y cols., 1991). En el caso de dosis bajas**

**para facilitar la liberación de dopamina en la corteza**

**prefrontal (Burrat, Focher, Bernard, Burtat y Corstanz,**

**1990). La expresión del síndrome de depresión mayor**

**está asociada a una disminución de la actividad de**

**los receptores D<sub>1</sub> en las propiedades antidepressivas**

**(Sridhar, Markes y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

**de la metilfenetamina (Sridhar, Markes y Kaplan y Minkvad,**

**1997; Willner y cols., 1991). El uso de dosis bajas**

núcleo accumbens y el núcleo caudado de la rata; este efecto es revertido por los antidepresivos imipramina y fluoxetina, administrados durante cinco semanas (Dziedzicka-Wasyłewska, Rogoz, Klimek y Maj, 1997). Además, el tratamiento prolongado hasta por dos semanas con imipramina, oxaprolina o citalopram (10 mg/kg) —pero no el agudo—, incrementa la actividad del ARNm que codifica para los receptores D<sub>1</sub> en el núcleo accumbens y en el estriado de la rata (Ainsworth, Smith, Zetterstrom y cols., 1998; Dziedzicka-Wasyłewska, Willner y Papp, 1997; Nomikos, Damsin, Wenkstem y Fibiger, 1989). Estos datos son consistentes con los estudios conductuales en los que la administración crónica de fluoxetina, desmetilimipramina, imipramina y mianserina, y la aplicación repetida de choques electroconvulsivos, incrementaron la respuesta conductual de los animales ante la administración de antagonistas dopaminérgicos como el sulpiride, pero estos efectos no se observan en animales sin tratamiento previo con los antidepresivos (See y cols., 1992; Collu y cols., 1997). Lo anterior señala que estos fármacos incrementan en el largo plazo la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos mesolímbicos, lo que pudiera estar relacionado con el tiempo requerido para que estas sustancias ejerzan sus acciones terapéuticas.

Las evidencias antes mencionadas sustentan la hipótesis de que el sistema dopaminérgico mesolímbico está implicado en las acciones neurofarmacológicas de los antidepresivos, sin embargo, no podemos descartar el papel que juegan otras estructuras cerebrales y sistemas de neurotransmisión cuya participación se ha descrito ampliamente (para una revisión más extensa, véase Brazier, 1997; Kent, 2000; Majeroni y Hess, 1998; Rodríguez Landa y Contreras, 1998). Se sabe que no existen sistemas aislados y que el efecto final de cualquier droga será el resultado de la activación y/o desactivación simultánea de diversos sistemas, lo que consecuentemente producirá tanto los efectos terapéuticos como los efectos colaterales asociados a los antidepresivos. Por ejemplo, los antidepresivos tricíclicos, los agonistas serotoninérgicos y los inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT —que son fármacos

que actúan sobre el sistema noradrenérgico y el serotoninérgico, principalmente (Baldessarini, 1991)—, a largo plazo modifican también la función del sistema dopaminérgico en la vía mesolímbica (Willner, 1997). A la fecha se carece de evidencias precisas de que estos fármacos tengan afinidad directa por los receptores dopaminérgicos (Lucki, Singh y Kreiss, 1994); empero, existe una estrecha relación entre el sistema serotoninérgico y el dopaminérgico (Bonhomme y Esposito, 1998; De Deurwaerdere, Bonhomme, Lucas, Le Moal y Spampinato, 1996). Lo anterior hace suponer que las acciones primarias de los antidepresivos se establecen sobre los receptores por los cuales tienen mayor afinidad, es decir, los serotoninérgicos y/o los noradrenérgicos (Kreiss y Lucki, 1995; Lucki y cols., 1994), pero al mismo tiempo activan la vía dopaminérgica como consecuencia de la activación serotoninérgica y/o noradrenérgica. Así, por ejemplo, la elevación de las concentraciones de 5-HT en el área tegmental ventral, principal reservorio de dopamina, facilita la liberación de este neurotransmisor hacia el sistema mesolímbico, lo que incrementa las concentraciones extracelulares de dopamina en el núcleo accumbens (Güan y McBride, 1989). De manera general, los datos antes señalados explicarían cómo es que los fármacos antidepresivos que actúan selectivamente sobre los receptores serotoninérgicos y/o noradrenérgicos también modifican a largo plazo la actividad del sistema dopaminérgico (Duman y cols., 1997; Kreiss y Lucki, 1995).

### Comentarios finales

La transmisión dopaminérgica central juega un papel importante en la adquisición y la expresión de respuestas motivadas (Tabla 1). Las drogas de abuso y los reforzadores naturales —como el alimento y la actividad sexual— promueven la transmisión dopaminérgica en el núcleo accumbens (Wilson y cols., 1995; Pflus y cols., 1990), mientras que los estímulos aversivos decrementan la dopamina extracelular en esta estructura (Di Chiara, 1995; Gamberana y cols., 1999).

F

Tabla 1. Participación del sistema dopaminérgico y el núcleo *accumbens* en la conducta motivada.

Conducta motivacional	Referencias
Por medio de estudios con la técnica de microdialisis, se ha demostrado que las drogas altamente adictivas utilizadas como reforzadores positivos, tales como la nicotina, las anfetaminas, la cocaína y los opiáceos, incrementan la disponibilidad de dopamina en el núcleo accumbens.	Di Chiara, 1995; Pontieri y cols., 1995.
En la rata, se ha encontrado que ante la presencia de reforzadores positivos naturales —agua, alimento o presencia de un compañero sexual— se incrementa la liberación de dopamina en el sistema mesolímbico.	Wilson y cols., 1995; Salomone y cols., 1994.
La estimulación eléctrica del haz del prosencéfalo medial tiene efectos reforzantes y facilita la liberación de dopamina en el sistema mesolímbico, particularmente en el núcleo accumbens.	Nakajima y Patterson, 1997; Fibiger, 1991; Fiorino y cols., 1993.
Durante la fase consumatoria de la actividad sexual de la rata se incrementan las concentraciones de dopamina en el núcleo accumbens.	Pfaus y cols., 1990.
En ratas a las que se les ha privado de alimento y posteriormente se les permite el acceso a la comida, se incrementa la dopamina extracelular en el núcleo accumbens.	Wilson y cols., 1995.
Las ratas sometidas a la prueba de desesperanza conductual tienen disminuida la dopamina extracelular en el estrado ventral (núcleo accumbens) y este efecto es revertido por el pretratamiento por 21 días con el antidepresivo tricíclico imipramina (20mg/kg).	Rossetti y cols., 1993.
En ratas, el estrés pre y postnatal puede predisponer el desarrollo de desesperanza conductual, cuando son sometidas al nado forzado en la etapa adulta; al parecer, este efecto está relacionado con alteraciones dopaminérgicas permanentes en el núcleo accumbens.	Alonso y cols., 1994.

G

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La activación dopaminérgica en el núcleo accumbens se relaciona al parecer con la integración y ejecución de la conducta motivada, mientras que su hipofunción se asocia con la falta de motivación. En ese sentido, es probable que los fármacos antidepressivos, al activar al sistema dopaminérgico, disminuyan la falta de motivación presente en el paciente deprimido; claro está, sin descartar las acciones de estas sustancias sobre otros sistemas de neurotransmisión, como el serotoninérgico y el noradrenérgico.

La dopamina en el sistema mesolímbico está implicada en diversas funciones conductuales - la actividad motora, el reforzamiento y la motivación (Salomone, Cousins, McCullough, Carrero y Berkowitz, 1994). La interferencia con la actividad dopaminérgica en este sistema altera la ejecución de diferentes tareas conductuales. Así, en los animales que son sometidos al modelo de desesperanza aprendida se detecta un alto déficit conductual (Gambarana, Ghigliari, Tagliamonte y cols., 1995), acompañado de una disminución de dopamina extracelular en el núcleo accumbens, lo cual es revertido por el antidepressivo imipramina (Gambarana y cols., 1999). Es importante señalar que este fármaco antidepressivo bloquea el efecto del estrés; es decir, los animales muestran un desempeño positivo en la prueba de escape y no hay diferencias en las concentraciones de dopamina en el núcleo accumbens, comparado con los animales control (Gambarana y cols., 1999). Sin embargo, la aplicación de antagonistas de los receptores dopaminérgicos bloquea el efecto de este antidepressivo. Por ejemplo, los animales a los que se les administró imipramina, tratados previamente con el antagonista dopaminérgico sulpiride, no mejoran su ejecución conductual en el paradigma de desesperanza aprendida (Gambarana y cols., 1995). En adición, en la prueba de nado forzado, donde se lleva al animal a un estado de desesperanza, evidenciado por el incremento de la inmovilidad, los antidepressivos efectivos clínicamente disminuyen esta conducta (Porsolt y cols., 1978; Porsolt y cols., 1997; Rodríguez-Landa y Contreras, 2000); la aplicación del antagonista dopaminérgico sulpiride directamente en el núcleo accumbens bloquea el efecto de la

desmetilimipramina en la prueba de nado forzado, lo que sugiere que la función dopaminérgica en este núcleo está involucrada en el efecto antiinmovilizador del antidepressivo (Cervo y Samanin, 1987), y, por tanto, en la conducta motivada del animal por buscar una salida a la situación de apremio que representa la prueba de nado forzado.

La hipofunción dopaminérgica en el sistema mesolímbico se asocia con el déficit conductual de los animales. Las ratas sometidas a estrés crónico tienen un porcentaje elevado de errores en tareas conductuales, en paralelo con una disminución de dopamina extracelular en el núcleo accumbens (Gambarana y cols., 1999; Gilgihan y cols., 1997). De tal manera, parece existir una correlación positiva entre la actividad dopaminérgica en el sistema mesolímbico y la respuesta de aciertos que conduce a situaciones hedónicas (Di Chiara, 1995). En este sentido, existe la posibilidad de que el abatimiento del estado de ánimo evidente en el paciente deprimido (de acuerdo al *Diagnostic and Statistical Manual (DSM IV)* (American Psychiatric Association, 1994) se deba en parte a la hipofunción del sistema dopaminérgico central (Kapur y Mann, 1992; Ridger, 1975), en tanto que los antidepressivos, al reactivar al sistema dopaminérgico, promueven un mejor estado de ánimo en el individuo y, por tanto, la disminución de la sintomatología de la depresión; lo anterior, claro está, sin descartar las acciones de los antidepressivos sobre los otros sistemas de neurotransmisión, como el noradrenérgico, el serotoninérgico y/o el GABAérgico.

## CONCLUSIÓN

Con base en estas observaciones, es posible concluir que los antidepressivos —además de ejercer sus acciones primarias sobre los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico— también ejercen a largo plazo algunas de sus acciones sobre el sistema dopaminérgico en el núcleo accumbens. Ello indica que, como era de esperarse, en la depresión y en las acciones de los antidepressivos existe una base múltiple en la que participan la mayor parte de los sistemas de neurotransmisión

y diversas estructuras cerebrales. Tal hecho constituye un desafío, y es necesario identificar la participación de cada uno de estos sistemas en las acciones antidepressivas de los fármacos, así como su posible repercusión en los efectos cola-

terales que algunas de estas sustancias ejercen con la meta futura de lograr una mayor comprensión de las bases neurobiológicas de la depresión y un mejor manejo terapéutico de este trastorno del estado de ánimo.

## REFERENCIAS

- Ainsworth, K., Smith, S.E., Zetterstrom, T.S., Pei, Q., Franklin, M. y Sharp, T. (1998). Effect of antidepressant drugs on dopamine D1 and D2 receptors expression and dopamine release in the nucleus accumbens of the rat. *Psychopharmacology Berlin*, 140, 470-7.
- Alonso, J.R., Navarro, E. y Rodríguez, M. (1994). Permanent dopaminergic alterations in the N. Accumbens after prenatal stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49, 353-8.
- American Psychiatric Association. (1994). *Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders* (4a). Washington: American Psychiatric Press, 345-359.
- Arango, V., Ernsterberger, P., Marzuk, P.M., Chen, J.S., Tierney, H., Stanley, M., Reis, D.J. y Mann, J.J. (1990). Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT<sub>2</sub> and  $\beta$ -adrenergic receptor binding sites in the brain of suicides victims. *Archives of General Psychiatry*, 47, 1038-47.
- Baldessarini, R.J. (1991). Los fármacos y el tratamiento de enfermedades psiquiátricas. En: Goodman, G.A., Ral, I.W., Nies, A.S., Taylor, P. (ed). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. (8va ed.). México, D.F. Médica Panamericana, 381-432.
- Bal-Klata, A. y Bird, M.M. (1990). The effects of various antidepressant drugs on the fine-structure of neurons of the cingulate cortex in culture. *Neuroscience*, 37, 689-92.
- Bonhomme, N. y Espino, F. (1998). Involvement of serotonin and dopamine in the mechanism of action of novel antidepressant drugs: a review. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 18: 447-54.
- Bowden, C., Cheetham, S.C., Lowther, S., Katona, C.L. y Crompton, M.R. (1997a). Reduced dopamine turnover in the basal ganglia of depressed suicides. *Brain Research*, 769, 135-40.
- Bowden, C., Hierolonou, A.F., Cheetham, S.C., Lowther, S., Cornblus, C.L., Crompton, M.R. y Horton R.W. (1997b). Dopamine D1 and D2 receptors binding sites in the brain samples from depressed suicides and controls. *Brain Research*, 752, 227-33.
- Ceriso, I. y Samamir, R. (1987). Evidence that dopamine mechanisms in the nucleus accumbens are selectively involved in the effect of dexamphetamine in the forced swimming test. *Neuropharmacology*, 20, 1469-72.
- Collu, M., Poggesi, A.S., Devoto, P. y Serra, G. (1997). Behavioral sensitization of mesolimbic dopamine D2 receptors in chronic fluoxetine treated rats. *European Journal of Pharmacology*, 322, 123-7.
- Colonna, F., Petit, M. y Lepine, J.P. (1979). Bromocriptine in affective disorders. *Journal of Affective Disorders*, 1, 173-177.
- Contreras, C.M., Marván, M.L., Márquez, C., Chacón, E., Guzmán Saenz, M.A., Barradas, A. y Lara, H. (1990). La plasticidad del sistema nervioso y el mecanismo de acción de las terapias antidepressivas. *Salud Mental*, 15(1), 39-48.
- De Deuwaerdere, P., Bonhomme, N., Lucas, G., Le Moal, M. y Spampinato, U. (1996). Serotonin enhance striatal dopamine outflow in vivo through dopamine uptake sites. *Journal of Neurochemistry*, 66, 210-5.
- Del Zompo, M., Boscheta, A., Bernardi, F., Baroni, C. y Corsini, G.U. (1990). Clinical evidence for a role of dopaminergic systems in depressive syndromes. En: Giessa, G.L. y Serra, G. (ed). *Dopamine and mental depression*. New York: Pergamon Press, 177-84.
- Di Chiara, G. (1995). Psychobiology of the role of dopamine in drugs abuse and addiction. *Neuroscience Research Communications*, 17, 133-43.
- Duman, R.S., Heninger, G.R. y Nestler, E.J. (1997). A molecular and cellular theory of depression. *Archives of General Psychiatry*, 54, 597-606.

Dziedzicka-Wasylewska, M., Rogoz, R., Klimek, V. y Maj, J. (1997). Repeated administration of antidepressant drugs affects the levels of mRNA coding for D1 and D2 dopamine receptors in the rat brain. *Journal of Neural Transmission*, 104, 515-24.

Dziedzicka-Wasylewska, M., Willner, P. y Papp, M. (1997). Changes in dopamine receptor R5Am expression following chronic mild stress and chronic antidepressant treatment. *Behavioral Pharmacology*, 8, 607-18.

Eber, D., Feistel, J., Loew, T. y Putner, A. (1996). Dopamine and depression-striatal dopamine D2 receptor SPECT before and after antidepressant therapy. *Psychopharmacology*, 126, 91-4.

Ferreira-Núñez, A., Bonilla-Jaime, H., Becerra-Cortés, N. y Velázquez-Moctezuma, J. (1998). Modelos animales de depresión. En: Martínez Gómez, M. y Velázquez-Moctezuma, J. (Ed.). *Bases neurobiológicas y ecológicas de la conducta*. Tlaxcala: Universidad Autónoma de Tlaxcala y Universidad Autónoma Metropolitana, 449-71.

Fibiger, H.C. (1991). The dopamine hypothesis of schizophrenia and mood disorders: contradictions and speculations. En: Willner, P., Scheel-Kruger, J. (eds). *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*. Chichester, Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd., 615-37.

Fibiger, H.G. y Phillips, A.G. (1988). Mesocorticolimbic dopamine system and reward. En: Kaliver, P.W. y Nemeroff, C.B. (eds). *The mesolimbic dopamine system*. New York: Annals of the New York Academic of Sciences, 206-15.

Fiorino, D.F., Coory, A., Fibiger, H.C. y Phillips, A.G. (1993). Electrical stimulation of reward sites in the ventral tegmental area increases dopamine transmission in the nucleus accumbens of the rat. *Behavioral Brain Research*, 55, 131-41.

Frazer, A. (1997). Pharmacology of antidepressants. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 17(2S): 2-18.

Fuller, R.W. y Wong, D.T. (1977). Inhibition of serotonin reuptake. *Federation Proceedings*, 36: 2154-8.

Gambara, C., Ghigliari, O., Tagliamonte, A., Scheggi, S., D'Alessandro, N. y De Montis, M.G. (1995). Crucial role of D1 dopamine receptors in mediating the antidepressant effect of imipramine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 50, 147-51.

Gambara, C., Nasi, F., Tagliamonte, A., Scheggi, S., Ghigliari, O. y De Montis, M.G. (1999). A chronic stress that impairs reactivity in rats also decreases dopaminergic transmission in the nucleus accumbens: A microdialysis study. *Journal of Neurochemistry*, 72, 2039-46.

Ghigliari, O., Gambara, C., Scheggi, S., Tagliamonte, A., Willner, P. y De Montis, M.G. (1997). Palatable food induces an appetitive behavior in satiated rats which can be inhibited by chronic stress. *Behavioural Pharmacology*, 8, 619-28.

Goodnick, P.J. (1991). Pharmacokinetics of second generation antidepressant Fluoxetine. *Psychopharmacology Bulletin*, 27, 803-11.

Guan, X.M. y McBride, W.J. (1989). Serotonin microinjection into the ventral tegmental area increases accumbens dopamine release. *Brain Research Bulletin*, 23, 541-9.

Hammer, M.B. y Diamond, B.I. (1996). Plasma dopamine and norepinephrine correlations with psychomotor retardation, anxiety and depression in non-psychotic depressed patients: a pilot study. *Psychiatry Research*, 64, 209-11.

Ichikawa, J., Meltzer, H.Y. (1995). Effect of antidepressants on striatal and accumbens extracellular dopamine levels. *European Journal of Pharmacology*, 281, 255-61.

Joffe, R.T., Post, R.M., Ballenger, F.C., Rebat, R., Rakita, R. y Gold, P.W. (1986). Neuroendocrine effects of the dopamine agonist pramipexol in depressed patients. *Clinical Neuropharmacology*, 9, 448-52.

Kapur, S. y Mann, J. (1992). Role of the dopaminergic system in depression. *Biological Psychiatry*, 32: 1-17.

Kent, J.M. (2000). SSARs, NaSSAs, and NaRIs: new agents for the treatment of depression. *The Lancet*, 355(9207): 911-918.

Kreiss, D.S. y Lucki, I. (1995). Effects of acute and repeated administration of antidepressant drugs on extracellular levels of 5-Hydroxytryptamine measured *in vivo*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 274, 866-74.

J

- Lindvall, O. y Björklund, A. (1983). Dopamine and norepinephrine containing neuron system: Their anatomy in the rat brain. En: Emson, P.C. (ed). *Chemical Neuroanatomy*. New York: Raven Press: 229-55.
- Lucki, I., Singh, A. y Kress, D. (1994). Antidepressant-like behavioral effects of serotonin receptor agonists. *Neuroscience Biobehavior Reviews*, 18: 85-95.
- Majerón, B.A. y Hess, A.P. (1998). The pharmacologic treatment of depression. *The Journal of the American Board of Family of Depression*, 11(12): 127-139.
- Mogenson, G.J. (1987). Limbic motor integration. *Progress in Psychobiology*, 12: 117-70.
- Mogenson, G.J., Jones, D.L. y Yim, C.Y. (1980). From motivation to action: functional interphase between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology*, 14: 69-97.
- Mouret, J., Lemoine, P. y Minut, M.P. (1987). Marqueurs polygraphiques, cliniques et thérapeutiques des dépressions dopamine dépendantes. *Academy of Sciences Paris*, 305, 301-306.
- Nakajima, S. y Patterson, R.L. (1997). The involvement of dopamine D2 receptors, but not D3 or D4 receptors, in the rewarding effect of brain stimulation in the rat. *Brain Research*, 760: 74-79.
- Nielsen, E.B. y Scheel-Krüger, J. (1986). Cuing effects of amphetamines and LSD; elicitation by direct microinjection of the drugs in the nucleus accumbens. *European Journal of Pharmacology*, 125: 85-9.
- Nomikos, G.G., Damsma, G., Wenkstern, D. y Fibiger, H.C. (1989). Acute effects of bupropion on extracellular dopamine concentrations in rat striatum and nucleus accumbens studied by in vivo microdialysis. *Neuropsychopharmacology*, 4: 65-9.
- Owens, M.J. y Nemeroff, C.B. (1994). Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transport. *Clinical Chemistry*, 40: 288-95.
- Papez, J.A. (1937). Proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurology and Psychiatry*, 38: 725-43.
- Pfaus, J.G., Damsma, G., Nomikos, G.G., Wenkstern, D.G., Blaha, C.D., Phillips, A.G. y Fibiger, H.C. (1990). Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. *Brain Research*, 530: 345-8.
- Pontieri, F.E., Tanda, G. y Di Chiara, G. (1995). Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 92: 12304-8.
- Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, N. y Jalfre, M. (1978). Behaviour despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. *European Journal of Pharmacology*, 47: 379-91.
- Porsolt, R.D., Pichon, M.L. y Jalfre, M. (1997). Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature*, 266: 730-2.
- Randrup, A., Munkvad, Y. y Fog, R. (1975). Mania, depression and brain dopamine. En: Esman, W.B. y Valzelli, L. (ed). *Current developments in psychopharmacology*. New York: Spectrum Publications: 207-29.
- Ridger, A.P. (1975). Biochemistry of depression: A review. *Journal of International Medical Research*, 3: 42-54.
- Riederer, P., Laux, G., Beckmann, H., Saletu, B., Waldmeier, P., Fritze, J., DaPrada, M., Möller, H.J., Schmauss, M. y Pruntek, H. (1988). The new generation of selective monoamine oxidase-inhibitors: biochemical, pharmacological and clinical perspectives. *Pharmacopsychiatry*, 21: 283-4.
- Rodríguez-Landa, J.F. y Contreras, C.M. (1998). Los fármacos antidepressivos y sus acciones en algunas estructuras del sistema límbico. *La Ciencia y el Hombre*, 10: 51-61.
- Rodríguez-Landa, J.F. y Contreras, C.M. (2000). Los fármacos antidepressivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Archivos de Neurociencias (Méx)*, 5(2): 74-83.
- Rogoz, R. y Driedzicka Wasylewska, M. (1999). Effects of antidepressant drugs on the D2/D3 receptors in the rat brain differentiated by agonist and antagonist binding, an autoradiographic analysis. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 35: 609-12.
- Rossetti, Z.L., Lar, M., Hmadani, Y. y Giessa, G.L. (1993). Depletion of mesolimbic dopamine during behavioral despair: partial reversal by chronic imipramine. *European Journal of Pharmacology*, 242: 313-5.
- Roth, B.L., Hamblin, M. y Caranallo, R.D. (1990). Regulation of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1C</sub> serotonin receptor levels. *Neuropsychopharmacology*, 3: 427-33.

K

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- Roy, A., De Jong, J. y Linnola, M. (1989). Cerebrospinal fluid monoamine metabolites and suicidal behavior in depressed patients: A 5-years follow-up study. *Archives of General Psychiatry*, 46: 609-12.
- Salomone, J.D., Cousins, M.S., McCullough, L.D., Carriero, D.L. y Berkowitz, R.L. (1994). Nucleus accumbens dopamine release increases during instrumental lever pressing for food but not free food consumption. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49: 25-31.
- Schildkraut, J.J. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *American Journal of Psychiatry*, 122: 509-22.
- See, R.E., Adams-Curtis, L. y Chapman, M.A. (1992). Assessment of dopamine release by in vivo microdialysis in the nucleus accumbens of the rat following acute and chronic administration of desipramine. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 654: 522-4.
- Serra, G., Collu, M., D'Aquila, P.S., De Montis, G.M. y Ciessa, G.L. (1990). Possible role of dopamine D1 receptor in the behavioral supersensitivity to dopamine agonist induced by chronic treatment with antidepressant. *Brain Research*, 527: 234-43.
- Sitland-Marken, P.A., Wells, B.J., Froemming, J.H., Chu, C.C. y Brown, C.S. (1990). Psychiatric applications of bromocriptine therapy. *Journal of Clinical Psychiatry*, 51: 68-72.
- Spyraki, C. y Fibiger, H.C. (1981). Behavioral evidence for supersensitivity of postsynaptic dopamine receptor in the mesolimbic system after chronic administration of desipramine. *European Journal of Pharmacology*, 74: 195-206.
- Tanda, G., Carboni, E., Frau, R., Di Chiara, G. (1994). Increases of extracellular dopamine in the prefrontal cortex: a trait of drugs with antidepressant potential? *Psychopharmacology Berlin*, 115: 285-8.
- Tannichff, G., Schindler, N.L., Crites, G.J., Goldenberg, R., Yochum, A. y Malatynska, E. (1999). The GABA receptor complex as a target for fluoxetine action. *Neurochemical Research*, 24(10): 1271-1276.
- Vaccheri, A., Dall'Olivo, R., Gaggi, R., Gandolfi, O. y Montanaro N. (1984). Antidepressant versus neuroleptic activities of sulpiride isomers in four animal models of depression. *Psychopharmacology*, 92: 262-4.
- Willner, P. (1997). The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant actions. *International Clinical Psychopharmacology*, 12: 7-14.
- Willner, P., Muscat, R., Papp, M. y Sampson, D. (1991). Dopamine, depression and antidepressant drugs. En: Willner, P., Scheel-Kruger, J. (ed). *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*. Chichester, Inglaterra, John Wiley & Sons Ltd.: 387-409.
- Wilson, C., Nomikos, G.G., Collu, M. y Fibiger, H.C. (1995). Dopaminergic correlates of motivated behavior: importance of drive. *Journal of Neuroscience*, 15: 5169-78.

2



### APÉNDICE III

Contreras CM, Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG. Estrés psicosocial: repercusiones neuronales e implicaciones farmacológicas. En: Manzo J, (Ed). Neurootología: La década del cerebro y la conducta animal. Universidad Veracruzana: Xalapa, Ver. 2002:267-282. (ISBN: 968-834-588-1)



Editor  
Dr. Jorge Manzo Denes

Instituto de neurootología  
UNIVERSIDAD VERACRUZANA

A

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Dr. Victor Arredondo Alvarez

*Rector*

Dr. Raúl Arias Lovillo

*Secretario Académico*

Dr. Carlos M. Contreras Pérez

*Director General de Investigaciones*

Mtro. Ernesto Rodríguez Luna

*Director del Area Biológico-Agropecuaria*

Mtro. Domingo Canales Espinosa

*Director del Instituto de Neuroetologia*

Primera Edición: 2002

D.R. © UNIVERSIDAD VERACRUZANA

ISBN 968-834-588-1

## Capítulo 18

# Estrés Psicosocial: Repercusiones Neuronales e Implicaciones Farmacológicas

Carlos M. Contreras\*, Juan Francisco Rodríguez-Landa y  
Ana Gloria Gutiérrez-García  
ccontreras@uv.mx\*, juarodriguez@uv.mx, angutierrez@uv.mx

Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Apartado Postal 320, Xalapa, Ver., 91001; Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.  
Tel./Fax (228) 812-5748

\* = Correspondencia

### INTRODUCCION

Se entiende por neuroetología el estudio científico del comportamiento del hombre y de los animales que toma en consideración las bases anatomofuncionales del sistema nervioso. Toma entonces como punto de partida a la neurofisiología, la psicofisiología, la neuroquímica y otras neurociencias y, desde luego la psicología comparada. Así, se intenta abordar el estudio del comportamiento a partir de un conjunto de enfoques situados a niveles diversos de organización como el molecular, el neuronal, el cerebral, el individual o el social formulando teorías y métodos integrativos acerca de los procesos y eventos que permean a estos niveles. Así, los códigos establecidos por las redes multisinápticas de la actividad neuronal, el flujo de la experiencia consciente y las pautas motoras que definen la conducta de un organismo constituyen solo algunos de los aspectos que han intentado abordar estas disciplinas desde hace ya varios años, pero por separado.

El campo de la etología moderna debe mucho al trabajo de Konrad Lorenz, quien presentó diversos y llamativos ejemplos de secuencias de comportamiento y rasgos que son específicos para cada especie, esto es, que caracterizan a individuos de la misma especie de manera semejante a como lo hace la estructura y la forma corporal. Además, estas conductas podían ser puestas de manifiesto de manera reproducible por estímulos y condiciones ambientales apropiadas. De esta manera, una secuencia conductual determinada dependería entonces de la presencia de estímulos externos adecuados, y de mecanismos cerebrales funcionales. Así, considerando el proceso del desarrollo

C

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 18

resulta relevante determinar lo que ocurre en algunas de las etapas críticas que determinan ciertas pautas conductuales en la etapa adulta. Por ejemplo, los trabajos fundamentales de Harry Harlow sobre el desarrollo del afecto y el amor en primates no humanos permitieron identificar las variables físicas y fisiológicas que resultan cruciales para el desarrollo de los afectos. A partir de este momento, se reconoció que diversos estados emocionales no solo son característicos del ser humano, sino que forman parte de nuestra herencia evolutiva, constituyendo así mecanismos de adaptación biológica, una idea ya enunciada por vez primera por C. Darwin.

En la actualidad, el entrelazar la actividad del cerebro con las reacciones emocionales de la conducta normal y alterada constituye parte de nuestro lenguaje cotidiano. Aunque aún no entendemos por completo su funcionamiento, sabemos que el cerebro es la única estructura de nuestro cuerpo que lucha por conocerse a sí misma, inclusive desde mucho antes de que hubiese sido posible realizar la primer inserción de un electrodo en el cerebro. Tuvo que pasar mucho tiempo para que se aceptara la noción de que las emociones tienen asientos específicos en estructuras particulares del cerebro y que al manipular la neurotransmisión por medios farmacológicos las emociones pueden ser modificadas, lo cual originó diversas líneas de investigación encaminadas a entender las bases neurobiológicas de algunos trastornos emocionales tales como la depresión y la ansiedad y, en paralelo, entender los mecanismos neurofisiológicos que subyacen al efecto terapéutico de diversos fármacos utilizados en su control. Esto sólo se logró a través de largos años de experimentación al probar hipótesis propuestas por trabajos pioneros, muchos de los cuales surgieron por *serendipia*.

### DEPRESION Y ANSIEDAD

Los trastornos del estado de ánimo, constituyen parte de los desórdenes psiquiátricos más frecuentes y a menudo invalidantes que afectan a millones de personas en todo el mundo. La ansiedad, hasta cierto punto, es un estado que se genera cuando los organismos se enfrentan a una situación potencialmente peligrosa, por lo que se considera un mecanismo de alerta o de alarma. La ansiedad se caracteriza por intranquilidad, aumento del estado de alerta, tensión motora e incremento de la actividad autonómica. Estas manifestaciones tienden a desaparecer una vez que el estímulo estresante es retirado, sin embargo, en algunos casos, cuando esta ansiedad persiste por largo tiempo y no tiene relación con el estímulo desencadenante, puede considerarse como patológica y ocurrir como uno de los síntomas centrales de algunos desórdenes de la conducta.

Por otro lado, la depresión es un desorden afectivo que se caracteriza por un abatimiento generalizado y ambiente (incapacidad para experimentar placer), además de retardar mayor abatimiento cognitivo e ideación suicida. La ansiedad y la depresión son entidades patológicas diferentes, sin embargo, un porcentaje alto de individuos padecen los dos tipos de desórdenes de manera simultánea y aún es posible que una de ellas vaya seguida de la otra, lo que sugiere la

posibilidad de que exista una base fisiopatológica común. La interpretación de las causas que ocasionan estos trastornos ha variado a lo largo del tiempo, hasta nuestros días, en los que se les concibe como la consecuencia de múltiples alteraciones en el funcionamiento del sistema nervioso central.

El estudio de la depresión es en cierta forma limitado, dado que el acceso al paciente deprimido reviste dificultades de tipo ético y limitaciones naturales en las maniobras experimentales. Por ello se hace necesario utilizar modelos en animales de laboratorio que, aun cuando son aproximaciones burdas al padecimiento del ser humano, nos permiten abordar el estudio de los procesos fisiopatológicos involucrados en los trastornos afectivos y de las acciones neurobiológicas que ejercen las terapias antidepressivas.

#### MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA DEPRESION

Los modelos animales son manipulaciones experimentales que intentan remedar de manera simplificada, algunas características de un padecimiento en particular que aqueja al ser humano. Su utilidad reside en que pueden detectar el potencial terapéutico de algunas drogas además de proporcionar datos relevantes sobre el mecanismo de acción de fármacos diversos. Asimismo constituyen una herramienta en la determinación de los substratos neurobiológicos de los desórdenes que representan en nuestro grupo de trabajo utilizamos, entre otras, la prueba de nado forzado la cual es sensible para detectar la potencia de los fármacos antidepressivos y explicar algunas de las bases neurobiológicas de la depresión experimental.

En el modelo de nado forzado los animales son introducidos en un estanque con agua sin posibilidades de escape, una condición que gradualmente induce un estado de desesperanza evidente por un aumento de la inmovilidad. Esta inmovilidad se define como los segundos que pasan de los cuales el animal solo realiza los movimientos mínimos que le permiten conservarse a flote sacando su cabeza por arriba de la superficie del agua y manteniendo así la respiración. En esta prueba el estado de desesperanza se induce sometiendo a las ratas que se usan como sujeto experimental a una sesión de 15 min llamada pre-prueba, que se realiza 24 hrs antes de la sesión de registro (5 min) y que representa un control experimentalmente importante de la prueba incrementando el tiempo de inmovilidad en la sesión de prueba. Aquellos que llaman la atención dos aspectos: El primero es la similitud con el aspecto clínicamente debatido y prácticamente imposible de controlar el abandono. Se trata de la forma del instinto ampliamente documentado por Lorenz. Para la prueba de nado forzado se utilizan ratas de laboratorio es decir animales que nacieron vivos y murieron en una condición privilegiada, con suficiente agua y suficiente comida para que les permitiera vivir sin necesidad de buscar su propia supervivencia, a excepción las ratas que mueren que usualmente mueren de hambre o de sed. Estas ratas tienen contacto con una cámara de seguridad, usualmente llamada cámara de escape, que les permite enfrentarse a una situación de escape, pero esto no significa el nado de modo que el aprendizaje por imitación puede ser considerado. Pues bien, tan

E

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 18

pronto son introducidas al estanque, como lo hacen otros mamíferos, nadan con una notable destreza y vigor. El segundo aspecto, es que para poder observar la inmovilidad en el nado forzado en la rata, es necesaria la presentación previa de un estímulo estresante, el cual de acuerdo con otros autores, puede ser la prueba, aunque basta la exposición a una luz brillante, o lo que se ha denominado **estrés ligero** (cambios de ciclo luz-oscuridad, inclinación de la jaula de estancia y otras maniobras). Entonces llama la atención, el hecho de que la administración de numerosos compuestos antidepressivos eficaces clínicamente, disminuya la inmovilidad en esta prueba. Así, sin tratar de revivir modelos teóricos en desuso, como el de los instintos, es posible suponer que el genoma contiene los códigos necesarios para que ocurran ciertas pautas conductuales que no requieren del aprendizaje. Uno de ellos -obvio- es el nado, pero el otro aparece en situaciones relacionadas con el estado afectivo y motivacional de los individuos, se trata del abandono de la lucha, es decir, la desesperanza.

En otro modelo, el de desesperanza aprendida, los animales son sometidos a choques eléctricos inevitables de baja intensidad en las patas y al cabo de poco tiempo, abandonan todo intento de escapar de esa y otras situaciones aversivas. La desesperanza ocurre porque los animales son expuestos a una situación inevitable, produciendo una circunstancia a la que Seligman y su grupo denominaron indefensión, un estado que se produce cuando los acontecimientos son incontrolables. Notablemente, todo el cuadro conductual, se revierte cuando se administran diversos antidepressivos.

Entonces, las ratas y otras especies cuando son tratadas con fármacos antidepressivos incrementan los intentos de evitación de estímulos aversivos. Así, los animales se muestran más motivados para buscar una solución ante la situación de apremio a la cual están siendo sometidos. Estas conductas animales remedan una de las características de la depresión en el humano, los cuales al no tener control sobre situaciones estresantes dejan de luchar, sus expectativas de incontrolabilidad crean por consiguiente miedo y ansiedad. La ansiedad genera a su vez pasividad e inhibición y el individuo reduce al mínimo su interacción con el ambiente, al carecer de incentivos y motivaciones. Por lo tanto, los modelos presentan validez predictiva y de constructo, dado que existe similitud fenomenológica entre el modelo y el desorden modelado y el desorden conductual se revierte con el tratamiento farmacológico adecuado.

De manera general, la gran mayoría de los modelos animales para el estudio experimental de la depresión y los más utilizados en la actualidad para evaluar el potencial de diversos fármacos antidepressivos remedan la depresión exógena o reactiva en la medida en que con los factores ambientales los que desencadenan los cambios conductuales y fisiopatológicos sugerentes de depresión.

Así, se ha sugerido una relación causal entre los acontecimientos estresantes continuos y el inicio de la depresión. La exposición continua a estresores, conduce a depresión entre 60 y 75% de los sujetos. Así, el estrés sostenido puede generar una inadecuada o insuficiente respuesta del individuo,

que finalmente puede contribuir a la expresión y/o exacerbación de diversas patologías tales como la ansiedad y la depresión. En este sentido, los modelos experimentales para el estudio de la depresión y de las acciones de los antidepresivos utilizan diversos estresores para inducir un estado de desesperanza caracterizado por alteraciones conductuales y neuroquímicas que remedan algunos aspectos de la depresión clínica.

Sin embargo, la mayoría de los modelos utilizan estresores que conducen a esquemas conductuales semejantes a la depresión, pero que son ajenos a la cotidianidad del animal de experimentación, y en todos los casos se produce un cambio conductual ligado a una manipulación experimental extraña (suspensión por el agua, ruidos, choques eléctricos en las patas, cambios extremos de temperatura, entre otros). En una aproximación más naturalista a los efectos del estrés se han diseñado modelos que semejan las condiciones sociales en las que viven los sujetos vulnerables al emplear estímulos más cotidianos en la vida de los animales que viven en grupo, con la finalidad de estudiar así, las estrategias conductuales que se emplean en una interacción social de conflicto. Los hallazgos han permitido proponer que el estrés psicosocial constituye uno de los factores que predisponen al individuo a desarrollar trastornos del estado de ánimo (Figura 18.1).

Modelos de estrés propuestos por  
M. Kanner y Pincus (1966)  
y Masuda y Porzich et al. (1981)

MODELO	ESTÍMULO DEPRESOR	REFERENCIA
Modelo de Kanner y Pincus (1966)	Manipulación de la temperatura, ruidos, choques eléctricos en las patas	1966
Modelo de Masuda y Porzich et al. (1981)	Interacción social de conflicto	Sekiguchi (1976)
Modelo de Masuda y Porzich et al. (1981)	Interacción social de conflicto	1981

Señalando en el título el estímulo social.

2. Semejanza en las condiciones inductoras.

3. Semejanza en los mecanismos subyacentes.

Las alteraciones conductuales deben ser atendidas por tratamiento farmacológico.



MODELO	ESTÍMULO DEPRESOR	REFERENCIA
Estrés psicosocial	Interacción social de conflicto	Sekiguchi (1976)
	Interacción social de conflicto	1981

Figura 18.1. Modelos de estrés propuestos para el estudio experimental de la depresión.



# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 18

### EL ESTRES PSICOSOCIAL.

El estrés psicosocial se considera uno de los factores que predisponen al desarrollo de diversos desórdenes tales como la ansiedad y la depresión. El método de comunicación desarrollado por Ogawa y Kuwahara (1966) parece ser un modelo apropiado para estudiar los cambios conductuales y fisiológicos que se desencadenan bajo situaciones de estrés psicosocial, basándose en una comunicación emocional intraespecie sin la participación de un estresor físico directo. Por ejemplo, un ratón que no recibe choques eléctricos en las patas puede desarrollar úlceras gástricas cuando es espectador de las respuestas emocionales de otro ratón que recibe choques eléctricos en las patas. Estas respuestas, todas ellas reflejo del dolor, involucran diferentes sistemas sensoriales, por ejemplo, el auditivo mediante la percepción de las vocalizaciones, el olfativo mediante la micción, e incluso el visual, al presenciar los saltos y el esfuerzo por escapar desplegado por su compañero. Por tanto, las lesiones estomacales y otras alteraciones conductuales pueden ser provocadas por una comunicación afectiva. Sin embargo, existe poca información disponible sobre las bases funcionales de este fenómeno.

En otros modelos experimentales de estrés psicosocial se somete a los animales a una relación social de conflicto a corto plazo basada en las relaciones dominante-subordinado. En el animal que resulta derrotado ocurre una hiperactividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que se relaciona con incremento del cortisol urinario e hipertrofia de las glándulas adrenales, lo que es sugerente de un estado ansioso agudo. Todo ello se acompaña de niveles bajos de actividad locomotora y disminución del peso corporal, lo que a su vez es sugerente de desesperanza. Si la situación de sumisión forzada se alarga, las ratas pueden llegar a desplegar un abatimiento conductual generalizado, caracterizado por falta de reactividad a la estimulación y abandono de todo intento de sobrevivencia, al grado de permanecer inmóviles en una de las esquinas de la caja de prueba y con la nariz enterrada en el aserrín (Fig. 18-2). Como se observa, y guardando la distancia astronómica que existe entre las patas conductuales de un roedor y las del ser humano, encontramos una evidente semejanza con aquel personaje para quien las cotidianidades han resultado su repertorio de habilidades y resistencia.

En nuestro laboratorio, hemos utilizado un modelo de estrés psicosocial en el cual encontramos que los animales que presencian por vía auditiva y olfativa la respuesta de otro individuo que está recibiendo choques inevitables en las patas despliegan mayor ansiedad que inclusive los propios animales que recibieron directamente el estresor físico. Creemos que esta ansiedad podría estar relacionada por una señal química presente en la orina de los animales que presencian los choques directamente, ya que la orina recabada de estos animales puede funcionar como un estado condicionante para el dar respuestas de algunas estructuras del sistema límbico, como la amígdala, hipocámpo y el septo. Aún así no es posible por ahora descartar la participación de las vocalizaciones acústicas y ultrasónicas en el desarrollo de la ansiedad desplegada por los

animales sometidos a este tipo de estrés psicosocial. Sin embargo, el sistema olfativo de la rata desempeña un papel importante en muchos aspectos de su comportamiento y una de sus funciones principales es la comunicación intraespecífica, en donde la comunicación mediada por sustancias químicas bien podría constituir un factor que contribuye a conservar la homeostasis del grupo. Luego entonces, la ansiedad que se genera cuando los individuos enfrentan una situación potencialmente peligrosa, podría ser un mecanismo de alerta o de alarma, mediado por una comunicación emocional intraespecífica eficaz e inmediata.

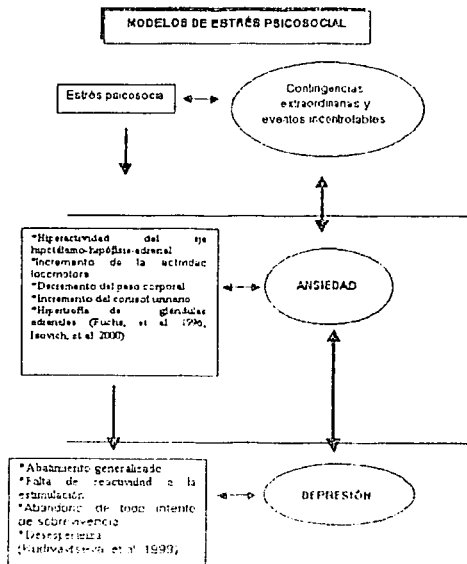


Figura 18-2 Modelo de estrés psicosocial una aproximación más naturalista para el estudio experimental de la depresión

L

273

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 18

Conviene mencionar algunos conceptos que se han elaborado en relación con las estructuras y niveles implicados en la organización de las reacciones emocionales relacionadas con el olfato. Estas estructuras, como el área septal, pertenecen al sistema límbico el cual recibe aferencias olfatorias que al parecer están íntimamente relacionadas con aquellas funciones emocionales asociadas a la olfacción. Efectivamente, se ha demostrado que el área septal es una de las "zonas de placer" del cerebro de las ratas y al parecer, esta estructura se encuentra implicada en el resorden aferivo, cuyo sintoma cardinal es la pérdida de la capacidad para experimentar placer. Luego entonces, no es de extrañar que numerosas pautas conductivas sean moduladas por diversas sustancias odoríferas en una forma de comunicación intraespecífica que de lugar a diversos procesos emocionales, incluyendo los afectivos.

### AUTCESTIMULACIÓN INTRACRANEAL

Gilos y Miler (1964), sin proponérselo, describieron un interesante fenómeno que revolucionó el estudio experimental del substrato anatómico-funcional de la motivación y el reforzamiento. El concepto de autestimulación intracraneal describe a un fenómeno que se observa cuando los animales de laboratorio han sido implantados con electrodos en algunas estructuras rostrales de cerebro y mediante sencillos programas de reforzamiento pueden aprender a proporcionarse estímulos eléctricos por medio de un sistema de retroalimentación. Los animales tienen acceso a presionar una palanca para activar un dispositivo electrónico que proporciona pulsos eléctricos en esas partes del protencéfalo. En estas condiciones prefieren oprimir la palanca al recibir el estímulo eléctrico antes que aumentar su ingesta líquida. Tener acceso al cerebro de los animales administrarse drogas altamente adictivas.

Así surgió el concepto de que en el cerebro existen zonas que responden ante estímulos más enteramente durante las siguientes décadas, apareciendo un sin número de investigaciones que confirmaron el fenómeno de autestimulación intracraneal y las dieron lugar a la identificación de las áreas cerebrales involucradas, así como a los tipos neuroquímicos que sustentan los circuitos neuronales que conforman el sistema límbico están relacionados directamente con la generación y modulación de estas emociones. Esta relación ha estado de acuerdo con el conocimiento del funcionamiento de las mecanismos sinápticos que participan en las alteraciones en patologías como la ansiedad y la depresión, así como de los mecanismos de acción que diversos fármacos emplean para modificar el comportamiento. El área septal ha sido una de las estructuras involucradas más activamente en el fenómeno de la autestimulación intracraneal por lo que ha sido el primer sitio de origen de los centros de integración emocional y control de la conducta humana.

### LOS ANTIDEPRESIVOS Y EL NÚCLEO SEPTAL LATERAL

La evaluación de la actividad neuronal mediante el registro de la actividad unitaria extracelular del núcleo septal lateral ha sido relacionada con la

depresión, la ansiedad y las acciones de los antidepresivos (Fig 18-3). Por ejemplo, la actividad de las neuronas del septum lateral disminuye ante la presentación de un estímulo aversivo condicionado, mientras que cuando los animales aprenden a predecir un estímulo agradable (por ejemplo el alimento que está por llegar), la actividad neuronal de este núcleo límbico se observa incrementada de manera anticipatoria. En adición, las ratas que son sometidas a situaciones estresantes provocadas por un estímulo aversivo, e.g., frío, desarrollan úlceras gástricas pero este efecto del estrés se reduce cuando en forma simultánea a la aplicación del estresor se les estimula eléctricamente el septum lateral, lo cual podría deberse a las características de recompensa que tiene por sí misma la estimulación eléctrica de esta estructura. Por lo tanto, los cambios observados en la actividad unitaria del septum sugieren que este núcleo podría ser considerado como uno de los sitios donde se gestan las bases neuronales que subyacen a las respuestas conductuales relacionadas con la aceptación de situaciones desagradables y también con el hedonismo.

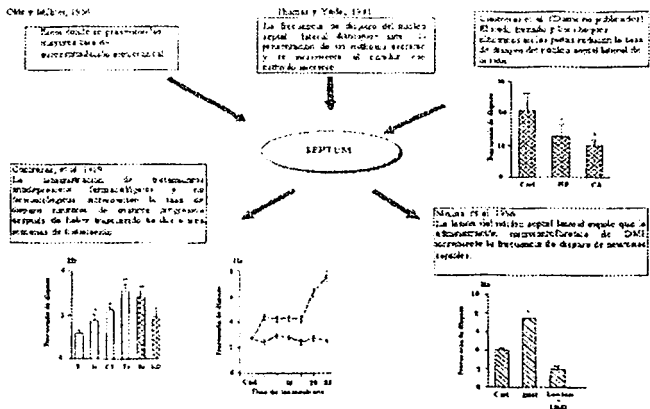


Figura 18-3 Participación del núcleo septal en las emociones y en el mecanismo de acción de los fármacos antidepresivos.

En nuestro grupo de trabajo hemos demostrado en repetidas ocasiones que la actividad del núcleo septal lateral y otras estructuras cerebrales se modifica tras la administración de diversas terapias antidepresivas farmacológicas y no farmacológicas. En la rata, la administración de antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la monoaminoxidasa, el electrochoque o

J

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 18

la privación de sueño, aumentan significativamente la tasa de disparo de las neuronas del núcleo septal lateral en sus aspectos dorsal e intermedio. Todas estas terapias farmacológicas y no farmacológicas se emplean con eficacia para el tratamiento de la depresión en los humanos. También, hemos demostrado que el incremento de la tasa de disparo del septum ocurre de forma gradual y alcanza su máxima expresión una vez que han transcurrido de dos a tres semanas de tratamiento. Este hecho puede resultar de particular interés dado que coincide con el tiempo que debe transcurrir en la clínica para que un fármaco antidepressivo ejerza su efecto terapéutico en el paciente deprimido. Estos hallazgos nos han llevado a proponer la participación de este núcleo en las acciones de los fármacos antidepressivos. De manera semejante la desmetilimipramina incrementa la tasa de disparo del septum lateral, pero este efecto no se observa en las neuronas septales remanentes a una lesión temprana realizada cuando las ratas tienen unos cuantos días de nacidas. Asimismo, el efecto de la clorimipramina sobre la tasa de disparo de las neuronas septales es cancelado cuando se lesionan las vías noradrenérgicas de la amígdala. De esta manera se propone que el septum lateral así como sus conexiones noradrenérgicas amigdalinas y las serotoninérgicas que provienen del núcleo dorsal del rafe parecen ser un sitio relevante en las acciones de los antidepressivos.

Ahora bien, de ser el caso que las terapias antidepressivas produzcan un incremento de la tasa de disparo del núcleo septal lateral, es factible que en la depresión ocurra un abatimiento del disparo neuronal de estas estructuras. Algunas evidencias apoyan esta aseveración. La tasa de disparo del septum lateral disminuye cuando los animales pueden predecir un estímulo aversivo cuyo estado emocional se relaciona con ansiedad y miedo. En consistencia hemos encontrado que cuando los animales son sometidos a choques eléctricos inevitables en las patas o son forzadas a nadar, la tasa de disparo del septum lateral disminuye alrededor del 50%, lo cual se acompaña de conductas sugerentes de un estado de desesperanza. Así, es posible sugerir que el abatimiento del disparo neuronal del septum pudiera ser una de las bases neurobiológicas de la depresión experimental y que, al menos parcialmente, el antidepressivo al restaurar los sistemas de neurotransmisión, particularmente los serotoninérgicos, lleve a un incremento de la actividad neuronal septal y sea esta una de las bases de su efecto terapéutico.

En los modelos de depresión experimental se observa un abatimiento de la tasa de disparo de las neuronas del septum lateral ante situaciones de estrés. Sin embargo, es posible que otras estructuras relacionadas con la expresión de la conducta motivada también modifiquen su actividad de manera diferencial. En este sentido hemos evaluado el efecto de fármacos antidepressivos que actúan principalmente sobre el sistema serotoninérgico, pero, sobre estructuras que son ricas en terminales dopaminérgicas, como el núcleo accumbens. Este núcleo pertenece al sistema mesolímbico y se le ha relacionado con la adicción a drogas psicoactivas, con estados hedónicos y con la expresión de la conducta motivada. Al respecto encontramos que tanto la clorimipramina como la fluoxetina afectan

K

durante 21 días, pero no en una sola dosis, disminuyen la tasa de disparo de las neuronas del núcleo accumbens en toda su extensión, pero especialmente en aquellas neuronas que reciben aferencias inhibitorias provenientes del área tegmental ventral el principal reservorio cerebral de dopamina. Entonces es posible que la reducción de la tasa de disparo se deba en parte a la estimulación del sistema dopaminérgico considerando que en el sistema nervioso central la dopamina ejerce acciones inhibitorias sobre el disparo neuronal. Estos datos apoyan la idea que los antidepresivos a largo plazo actúan de manera diversa ejerciendo acciones en cascada que varios sistemas de neurotransmisión especialmente en estructuras de "eniace" como el núcleo accumbens el cual forma parte del sistema mesolímbico relacionado con las emociones y la motivación, pero a su vez tiene conexiones con los sistemas motores.

En consistencia, en otro estudio encontramos que la lesión del núcleo accumbens cancela las acciones conductuales de la desmetilimipramina en la prueba de nado forzado, pero no bloquea el efecto sobre la tasa de disparo del núcleo septal lateral lo que sugiere que estructuras límbicas como el núcleo septal lateral, la amígdala y el hipocampo por mencionar sólo algunas, requieren de una estructura como el núcleo accumbens, para integrar y posteriormente enviar la información hacia sistemas integradores de la región motora mesencefálica, los cuales modulan las vías cortico-espinales. De esta manera se tendrían dos niveles. En el nivel límbico se estarían estableciendo los procesos afectivos de los que en el humano damos cuenta por el reporte verbal. En el otro nivel, el mesolímbico, el nigroestriado y sus conexiones cortico-espinales estarían implicadas en la expresión motora de la motivación. En otras palabras este segundo componente es al que tenemos acceso en la experimentación animal, ya que al carecer de información verbal, se miden conductas relacionadas con los procesos emocionales y motivacionales expresadas por cambios motores.

En un intento de correlacionar ciertas pautas conductuales con la actividad cerebral o, si así se desea con una base neuroetológica, hemos podido identificar las variaciones de la actividad neuronal del núcleo septal lateral con la desesperanza, evaluada mediante la inmovilidad en la prueba de nado forzado. Ya mencionábamos que la actividad neuronal del núcleo septal lateral disminuye ante la presentación de un estímulo aversivo y por otro lado, hemos encontrado que la prueba de nado forzado constituye un importante estresor que disminuye la actividad neuronal de esta estructura en comparación con animales que no han pasado por dicha prueba. Sin embargo, estos hallazgos los hemos realizado *a posteriori* del estrés. Faltaba entonces la demostración de que la actividad septal disminuye durante la expresión de la conducta de desesperanza. En efecto, cuando estos animales son sometidos a la prueba de nado forzado, simultáneamente se registra la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral se observa una disminución de la frecuencia y amplitud de la actividad septal durante los períodos de inmovilidad prolongados (Fig. 18-4). Lo anterior sugiere que el incremento de la tasa de disparo del septum se relaciona con el aumento de la motivación del animal por escapar de la situación de apremio que el nado

# FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 18

forzado representa, en tanto que la disminución de la tasa de disparo se podría relacionar con la desesperanza

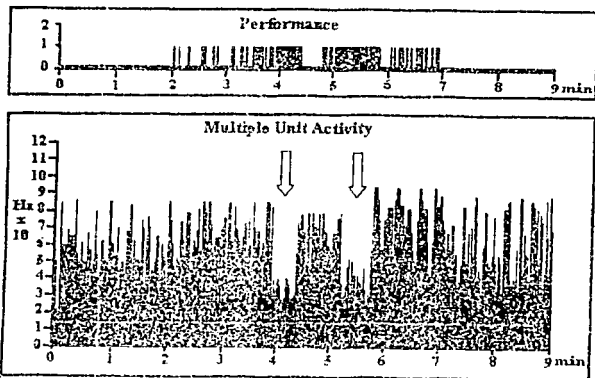


Figura 18-4. Actividad multiunitaria de ratas implantadas crónicamente con un electrodo en el núcleo septal lateral y forzado a nadar. En la gráfica superior las barras indican los períodos en los que la rata presentó la inmovilidad. En la gráfica inferior se muestra la actividad multiunitaria del núcleo septal lateral. Las áreas sombreadas indican la reducción de la tasa de disparo de las neuronas septales lo cual concuerda con la disminución de esperanza por la rata en la prueba de nado forzado. En la gráfica inferior los dos primeros minutos corresponden a la actividad basal del septum lateral, del minuto 2 al 7 corresponde a los 5 min de nado forzado, los dos últimos minutos corresponden al registro post-nado forzado.

## CONCLUSIONES

La neurociología debe ser concebida como una interciencia que toma recursos de varias otras y su objetivo es brindar respuestas a los interrogantes de las bases neuronales de la conducta. Para ello, consideramos que el estudio de padecimientos como los trastornos afectivos representa un desafío atractivo, ya que trata sobre los sentimientos. Y sin embargo, el obstáculo más importante está representado por la escasez de modelos animales. Así, es necesario poner mucha imaginación en el desarrollo y aplicación de tales modelos. Hemos descrito algunos de estos modelos que se usan para estudiar los trastornos afectivos. Unos de ellos, son más sensibles que otros, pero todos llevan la tarea de escudriñar los secretos de nuestro cerebro y de cómo esta estructura misteriosa y apasionante controla todos los demás órganos y sistemas. Y aun más intrigante

como se regula a sí mismo y nos lleva a comunicar nuestras dudas y experiencias sobre sí mismo.

El camino es largo aun

#### AGRADECIMIENTOS

Durante la realización de este trabajo JFR-L y AGG-G recibieron becas para estudios de Doctorado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-México) registros 124885 y 150023, respectivamente. Además de becas parciales de la Dirección General de Estudios de Postgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-UNAM).

#### LECTURAS RECOMENDADAS

Anisman H y Zacharko RM. Depression: the predisposing influences of stress. *Behav Brain Sci* 5 (1982) 89-137

Contreras CM, Alcalá-Herrera V y Marván ML. Action of antidepressants on the septal nuclei of the rat. *Physiol Behav* 46 (1989) 793-798

Contreras CM, Chacón I, Marván ML y Guzmán-Saenz MA. Amygdalar catecholaminergic input to septal nuclei: relation to clomipramine actions on lateral septal neurons in the rat. *Bol Estud Méd Biol Méx* 40 (1992) 9-13

Contreras CM, Marván ML, Alcalá-Herrera V y Guzmán-Saenz MA. Chronic clomipramine increases firing rate in the lateral septal nuclei of the rat. *Physiol Behav* 48 (1990) 551-554

Contreras CM, Marván ML y Alcalá-Herrera V. A few electroconvulsive shocks produce more reliable effects on firing rate in lateral septal neurons than repetitive treatment in the rat. *Neuropsychobiol* 27 (1993) 80-82

Contreras CM, Marván ML y Alcalá-Herrera V. Sleep deprivation is a less potent agent than clomipramine in increasing firing rate in lateral septal neurons in the rat. *Neuropsychobiol* 27 (1993) 83-85

Contreras CM, Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG y Bernal-Morales B. The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *Psychopharmacol* 15(2001) 231-236

Díaz JL. Estructura del comportamiento y de la dinámica social: una analogía musical. En: Díaz JL (ed). Análisis estructural de la conducta. UNAM, México (1985) 19-45

Duman RS, Heninger GR y Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiat* 54 (1997) 597-606

N

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



**Capítulo 18**

- Fuchs E, Kramer M, Hermes B, Netter P y Hiemke C - Psychosocial stress in tree shrews: clomipramine counteracts behavioral and endocrine changes. *Pharmacol Biochem Behav* 54(1996) 219-228
- Gambarana C, Ghiglieri O, Tagliamonte A, Di Alessandro N y De Montis MG - Crucial role of D1 dopamine receptors in mediating the antidepressant effect of imipramine. *Pharmacol Biochem Behav* 50(1995) 147-151
- Gutiérrez-García AG y Contreras CM - El comportamiento sumiso: una estrategia conductual defensiva en los animales y en el humano. *Psicología y Salud* 10 (2001) 201-213
- Ishikawa M, Hara Ch, Ohdo S y Ogawa N - Plasma corticosterone response of rats with sociopsychological stress in the communication box. *Physiol Behav* 52 (1992) 475-480
- Isovich E, Mijnter J, Flügge G y Fuchs E - Chronic psychosocial stress reduces the density of dopamine transporters. *Eur J Neurosci* 12 (2000) 1071-1078
- Kudryavtseva NN, Bakshantovskaya IV y Koryakina LA - Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol Biochem Behav* 38 (1991) 315-320
- Molina M, Diaz-Meza JL, Saavedra M, Ortiz M y Contreras CM - Raphe-septal neurons changes in sensitivity to desipramine following an early septal lesion in the rat. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 20 (1996) 1427-1434
- Ogawa N y Kuwahara K - Psychophysiology of emotion-communication of emotion. *Jan J Psychosom Med* 6 (1966) 352-357
- Olds J y Millner P - Positive reinforcement produced by electrical stimulation on septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol* 47 (1954) 419-427
- Porsolt RD, Lenégre A y McArthur RA - Pharmacological models of depression. En Oliver V, Mos J, Slangen J (Eds) - *Animal models in psychopharmacology: advances in pharmacological sciences*. Birkhauser Verlag, Switzerland (1991): 137-159.
- Porsolt RD, Pichon ML y Jaifra M - Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature* 266 (1977) 730-732
- Rodríguez-Landa JF y Contreras CM - Los fármacos antidepressivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Arch Neurocienc (Méx)* 5 (2000) 74-83
- Seligman ME y Maier SF - Failure to escape traumatic shock. *J Exp Psychol* 122 (1967) 1-9
- Thomas E, Yeom E y Stackland GE - Septal unit activity during classical conditioning: a regional comparison. *Brain Res* 547 (1991) 303-308
- Willner P - Animal models of depression. En Den Boer JA, Ad Sitsen JM (Eds) - *Handbook of depression and anxiety: A biological approach*. Marcel Dekker Inc, New York (1994) 271-316

Yadin E y Thomas E - Septal correlates of conditioned inhibition and excitation in rats. *J Comp Physiol. Psychol.* 95(1981) 331-334

Yadin E y Thomas E - Stimulation of the lateral septum attenuates immobilization-induced stress ulcers. *Physiol. Behav.* 59(1996) 883-886

#### APÉNDICE IV

Rodríguez-Landa JF, Contreras CM. Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. Archivos de Neurociencias (Mex) 2000, 5(2):74-83.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión

Juan Francisco Rodríguez-Landa, Carlos M-Contreras

### RESUMEN

La inmovilidad que presentan los animales forzados a nadar ha sido utilizada para evaluar las acciones de los fármacos antidepresivos a nivel experimental. Las ratas o los ratones sometidos a esta prueba, después de nadar con vigor durante algunos minutos se mantienen a flote realizando unos cuantos movimientos, pero no se desplazan más, lo que se interpreta como un indicador de desesperanza, ya que esta inmovilidad es disminuida con la administración de fármacos antidepresivos. Mediante el análisis de esta conducta se ha podido predecir la acción antidepresiva de diversas sustancias e identificar algunos de los sistemas de neurotransmisión que participan en sus acciones farmacológicas. En el presente trabajo se revisará: a) algunas generalidades de la prueba de nado forzado, b) el efecto que ejercen los fármacos antidepresivos sobre la inmovilidad de los animales forzados a nadar y c) algunos indicadores relativos a la participación de diferentes sistemas de neurotransmisión que intervienen en las acciones de los antidepresivos obtenidos mediante el análisis conductual en la prueba de nado forzado.

**Palabras Clave:** Antidepresivos, dopamina, GABA, noradrenalina, serotonina.

### ABSTRACT

#### ANTIDEPRESSANT DRUGS AND IMMOBILITY BEHAVIOR IN THE FORCED SWIMMING TEST. PARTICIPATION OF NEUROTRANSMISSION SYSTEMS

Immobility of animals forced to swim has been used to evaluate the actions of antidepressant drugs at experimental level. In this test, the rats or mice after having a vigorous swimming activity during a few minutes, stay simply floating or with minimum movements which is

interpreted as a behavioral despair, giving that this immobility is reduced by the administration of antidepressant drugs. Herein, by using this approach it is possible to predict the potency of the antidepressant action of some drugs and identify some of the neurotransmission systems involved in their pharmacological actions. In the present article, we review: a) some general concepts of the forced swimming test, b) the effect of antidepressant drugs on the immobility and, c) some indicators relative to the participation of several neurotransmission systems in the actions of antidepressant drugs obtained by the behavioral analysis, using the forced swimming test (*Arch Neurocién* 5(2) 74-83, 2000).

**Key Words:** Antidepressant, dopamine, GABA, noradrenaline, serotonin

La depresión es un trastorno complejo del cual se desconocen diversos aspectos de su fisiopatología, a pesar de abundantes estudios clínicos y experimentales, no se ha logrado comprender en su totalidad las acciones de los fármacos utilizados en su control<sup>1</sup>. Este hecho ha propiciado el desarrollo de modelos animales que permiten estudiar las acciones de los fármacos antidepresivos, encaminados a entender su mecanismo de acción. De estos estudios se han logrado obtener datos acerca de las acciones de los antidepresivos en diversas estructuras cerebrales desde el punto de vista neuroquímico, electrofisiológico y

Recibido: 7 julio 1999. Aprobado: 19 febrero 2000.

Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana e Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México Xalapa, Veracruz, México. Correspondencia: Carlos M Contreras, Apdo. Postal 320, Xalapa 91000, Veracruz, México.

TESIS CON

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Juan Francisco Rodríguez-Landa et al

Arch Neurocienc (Mex)  
Vol 5, No 2 74-83 2000

conductual (para revisión véase Rodríguez-Landa y Contreras, 1998)<sup>7</sup>, lo que ha permitido proponer nuevas hipótesis que tratan de explicar los procesos neurofarmacológicos que subyacen a las acciones terapéuticas de los antidepressivos.

El análisis conductual en animales de experimentación es una de las herramientas utilizadas en la investigación farmacológica de los antidepressivos<sup>3</sup>. Entre los modelos conductuales empleados para evaluar las acciones de los antidepressivos destaca la prueba de nado forzado de Porsolt et al<sup>4</sup>. Estos autores propusieron que el nado forzado es una situación estresante que después de cierto tiempo conduce al animal a un estado de desesperanza que se caracteriza por una alta frecuencia y duración de los períodos de inmovilidad. Este hecho es interpretado como una disminución de la motivación o como un bajo estado de ánimo del individuo para buscar una salida al problema<sup>4</sup>, en lo general se acepta que la inmovilidad incrementada reproduce uno de los síntomas principales de la depresión clínica, es decir, la falta de motivación para confrontar una situación apremiante<sup>5</sup>, lo que refleja el abatimiento del estado de ánimo. En efecto, los animales tratados con antidepressivos efectivos clínicamente reducen en gran medida la inmovilidad<sup>6, 8, 10</sup>, sugiriendo así un incremento de la motivación del animal para buscar una solución a la situación de apremio que representa el nado forzado. Con base en las observaciones de que los antidepressivos efectivos clínicamente reducen la inmovilidad de los animales forzados a nadar se han detectado propiedades anti-inmovilidad de otras sustancias como las hormonas<sup>11, 12</sup> y de algunos extractos de plantas<sup>13, 15</sup>. Asimismo, se han identificado los sistemas de neurotransmisión involucrados en las acciones farmacológicas de los antidepressivos. El objetivo del presente trabajo consiste en ilustrar como es que a partir del análisis de la inmovilidad de los animales tratados con antidepressivos y sometidos a la prueba de nado forzado, se pueden obtener indicadores relativos de la actividad íntima de estas sustancias sobre los diferentes sistemas de neurotransmisión, lo que ha aportado datos de interés acerca de la base neurobiológica de las acciones terapéuticas de los fármacos antidepressivos.

## Generalidades de la prueba de nado forzado

La prueba de nado forzado consiste en introducir a un animal (rata o ratón) a un recipiente con agua donde no existe la posibilidad de escapar. En una primera sesión (preprueba), se introduce al animal al recipiente durante 15 minutos, donde después de un periodo

de vigorosa actividad, sólo realiza los movimientos necesarios para mantener la cabeza por arriba del nivel del agua, pero sin desplazarse. Se acepta que en esta sesión el animal "aprende" que la prueba no tiene solución, veinticuatro horas más tarde el animal es sometido a la prueba durante 5 minutos para evaluar la inmovilidad<sup>4, 6</sup>. En la segunda sesión, la inmovilidad corresponde a un indicador de desesperanza o a un bajo estado de ánimo del animal. Esta hipótesis es respaldada por el hecho de que la aplicación de diversas terapias antidepressivas efectivas clínicamente, tales como las farmacológicas (antidepressivos tricíclicos y atípicos, inhibidores de la enzima monoamino oxidasa y agonistas selectivos serotoninérgicos) y las no farmacológicas (privación de sueño y el electrochoque), disminuyen la inmovilidad en esta prueba, sin afectar la actividad locomotora<sup>4, 6, 10</sup>. Lo anterior es interpretado como un aumento de la motivación del animal para buscar alternativas de solución al problema e intentar el escape sin haber promovido un aumento de la actividad muscular esquelética.

Cabe señalar que para detectar la disminución de la inmovilidad provocada por los antidepressivos es necesario someter al animal a la preprueba o bien, a alguna otra situación de apremio como la restricción de espacio o los choques eléctricos inescapables en las patas<sup>16, 17</sup>. Este hecho indica que el efecto de los tratamientos antidepressivos efectivos clínicamente es evidente sólo en animales estresados pero no en individuos "normales"<sup>18</sup>.

La inmovilidad de los animales forzados a nadar también ha sido interpretada como una conducta adaptativa que le permite al animal conservar su capacidad energética ante la situación de apremio que representa la prueba, más que como un indicador de desesperanza<sup>19, 20</sup>; así, se supone que esta conducta es "aprendida" durante la sesión de preprueba, para la que los antidepressivos no permiten su consolidación, por lo que en la sesión de prueba la inmovilidad disminuye en los animales tratados con antidepressivos pero no en los animales control<sup>3</sup>. Por otro lado se ha sugerido que la disminución de la inmovilidad provocada por los antidepressivos podría ser el resultado de un incremento de la actividad motora general del animal. Sin embargo, la actividad motora de los animales se incrementa sólo con sustancias que son estimulantes del sistema nervioso central como las anfetaminas (cuadro 1), pero no con los fármacos antidepressivos<sup>21</sup>. En contraparte, los depresores del sistema nervioso disminuyen la actividad locomotora e incrementan la inmovilidad durante la prueba de nado forzado<sup>4</sup>. Por lo

B

Cuadro 1. Efecto de diversos fármacos sobre la conducta de inmovilidad en nado forzado y en la actividad locomotora.

Tipo de actividad	Nombre del compuesto	Inmovilidad en nado forzado	Actividad locomotora	Referencia
A	Imipramina	↓	No la modifica	(22)
n	Desmetilimipramina	↓	en dosis altas la disminuye	
i	Isopropina	↓	↓	
d	Ceprona	↓	↓	
e	Landsipirama	↓	↓	
p	8-OH DPAT	↓	↓	
f	Sertralina	↓	No la modifica	(9)
e	Fluoxetina	↓	No la modifica	(36)
s	Citalopram	↓	↓	
s	Fluoxanana	↓	↓	
a	8-OH DPAT	↓	No la modifica en dosis altas la disminuye	(32, 36)
	Acupuntura de sedas	↓	No la modifica	(58, 61)
Sim	Desipram	↓	No la modifica	(27)
actividad	Ketanserina	-	Disminuye	(45)
	Ritanserina	-	Disminuye	
Falso positivo	Amfetamina	↑	Incrementa	(22)
	Imipras	↑	Incrementa en dosis altas	(54)

Los fármacos antidepressivos disminuyen la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado y no modifican o en su caso disminuyen la actividad locomotora. Las sustancias que disminuyen la inmovilidad pero que estimulan la actividad locomotora son las sustancias positivas. Los agentes antidepressivos no disminuye la inmovilidad, no modifica la actividad.

anterior se considera un buen antidepressivo aquel que disminuye la inmovilidad en el nado forzado, sin modificar la actividad locomotora del animal.

No obstante, la inmovilidad puede ser influida por diversos factores (cuadro 2). Por ejemplo, durante el nado forzado los animales pueden liberar una "sustancia de alarma" que modifique la conducta del mismo animal en estudio, pero también la de otras ratas.

Cuadro 2. Factores que pueden modificar la conducta de inmovilidad de los animales forzados a nadar.<sup>12</sup>

Factor	Efecto
Sustancia de alarma liberada por la rata o ratón	Disminuye la conducta de inmovilidad en animales forzados a nadar en el agua dulce, aparentemente nado otro animal, aparentemente por un incremento en el estrés o miedo del animal. <sup>12</sup>
Nivel de agua que contiene el recipiente	El tiempo de inmovilidad de los animales es menor cuando el recipiente contiene un nivel alto de agua, aparentemente por un incremento del miedo ante un ambiente inestable. <sup>12</sup>
Temperatura del agua	Las temperaturas por abajo de 20°C y por arriba de 29°C, disminuyen la conducta de inmovilidad, aparentemente por incremento en el estrés o miedo del animal. <sup>12</sup>

sometidas subsecuentemente a la prueba cuando no se ha cambiado el agua del estanque entre prueba y prueba.<sup>23,24</sup> En ciertos casos, la inmovilidad disminuye en los animales introducidos al estanque donde previamente nadó otra rata, lo que no sucede en los animales forzados a nadar en agua limpia<sup>25</sup> y al parecer esta disminución de la inmovilidad se relaciona con el incremento del miedo del animal, en apariencia activado por la "sustancia de alarma"<sup>26</sup>, lo que pudiera estar relacionado con el hecho de que los niveles de corticosterona se incrementan en los animales forzados a nadar<sup>27</sup>; sin embargo, la adrenalectomía no modifica la inmovilidad en la prueba de nado forzado.<sup>28</sup> A su vez, entre las diferentes cepas de ratas utilizadas en la prueba de nado forzado existen diferentes grados de sensibilidad a la "sustancia de alarma". Por ejemplo, las ratas de la cepa Sprague-Dawley, la Long Evans y la Fisher 344 cuando son colocadas en un estanque donde con antelación nadó otra rata efectivamente modifican la inmovilidad un efecto que no se observa en las ratas de la cepa Wistar, lo que sugiere que tal vez la "sustancia de alarma" de las ratas Wistar es menos potente que la de las otras cepas de ratas.

Otro factor que puede modificar la inmovilidad es el nivel del agua que contiene el estanque. Las ratas forzadas a nadar en un recipiente con un nivel alto de agua despliegan menor inmovilidad que aquellas colocadas en el recipiente con un nivel bajo donde tienen la posibilidad de tocar el fondo.<sup>29</sup> Asimismo, el nivel alto de agua puede facilitar la emisión de estrategias conductuales de búsqueda de salida en el estanque de prueba, particularmente en animales tratados con fármaco antidepressivos inhibidores de la recaptura de noradrenalina.<sup>30</sup>

La variación de la temperatura del agua en el estanque es otro factor modificador de la inmovilidad de los animales forzados a nadar.<sup>31</sup> En este sentido, la actividad de las ratas o los ratones durante la prueba de nado se da en forma de U, es decir, a temperaturas por abajo de los 20°C y por arriba de los 29°C, el tiempo empleado en el nado es mayor que en los animales que nadan en agua a temperaturas intermedias. Al parecer, el incremento de la actividad de los animales bajo temperaturas extremas se relaciona con el incremento del estrés.<sup>32</sup>

A pesar de que existe controversia al considerar a la inmovilidad de los animales forzados a nadar como un indicador de desesperanza o como una conducta adaptativa, el hecho de que los antidepressivos eficaces clínicamente disminuyan esta conducta apoya la suposición de que esta prueba es un modelo útil para predecir la potencia antidepressiva de diversas sustancias<sup>33</sup> y para explorar sus acciones sobre los diferentes sistemas de neurotransmisión.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Juan Francisco Rodríguez Landa et al.

## Sistemas de neurotransmisor y nado forzado

A partir de los estudios realizados en la prueba de nado forzado se han identificado algunos de los sistemas de neurotransmisión implicados en las acciones farmacológicas de los antidepresivos. En esta prueba se han ensayado diversos fármacos que actúan sobre receptores serotoninérgicos, noradrenérgicos, dopaminérgicos y GABAérgicos (cuadro 3), a los cuales se les implica tanto en las acciones farmacológicas de los antidepresivos como en la fisiopatología de la depresión.

**Cuadro 3.** Efecto de algunos agonistas y antagonistas a receptores neuronales de membrana sobre la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado.

Acción	Receptor afectado	Fármaco	Efectos sobre la inmovilidad	Referencias
	5-HT <sub>1</sub>	Bupropión	-	(22, 32, 33, 34)
		Geprona	-	
A		Loxaprona	-	
B	5-OH-DPAT	5-OH-DPAT	-	
B	noradrenérgico	Clonafesol	-	(44)
B			-	
B	noradrenérgico	Clonafesol	-	(43)
C	D	Pranoprolol	-	(53)
C	GABA <sub>A</sub>	Muscimol	-	(61)
	5-HT <sub>1</sub>	NAN-190	*Bloquea el efecto de los agonistas 5-HT <sub>1</sub>	(33)
A	noradrenérgico	Propafenolol	*Bloquea el efecto de la desmetilpropamina	(38)
A	D	Substida	*Bloquea las acciones de la 5-OH-DPAT y la desmetilpropamina	(42, 52)
B				
B	GABA <sub>A</sub>	Pentotolam	*Bloquea las acciones del sistema de captación de serotonina	(58, 62)
B		Pentotolam		
B	GABA <sub>A</sub>	Baclofen	*Bloquea las acciones de la imipramina	(67)

- disminución de la inmovilidad de los animales forzados a nadar.  
\*Efecto contrario al de la disminución de la inmovilidad ejercida por los antidepresivos en la prueba de nado forzado.

## Sistema serotoninérgico

Los estudios experimentales y clínicos indican que el sistema serotoninérgico juega un papel relevante tanto en la fisiopatología de la depresión como en las acciones de los antidepresivos. En la prueba de nado forzado se han evaluado diversos fármacos antidepresivos que modifican la neurotransmisión serotoninérgica como son algunos tricyclicos, algunos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina y otros agonistas serotoninérgicos. La aplicación sistémica de inhibidores de la recaptura de serotonina, como la fluoxetina,

la fluvoxamina, la paroxetina y la sertralina, disminuyen la inmovilidad de los animales forzados a nadar. En forma similar, los agonistas específicos a los receptores serotoninérgicos del tipo 1A (5-HT<sub>1A</sub>) como la buspirona, la geprona, la ipsapirona y el 8-hydroxi-2-(di-n-propilamino)tetralin (8-OH-DPAT) también promueven disminución de esta conducta. Todo lo que sugiere que el efecto anti-inmovilidad pudiera estar mediado por la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>. En efecto, la aplicación *in situ* de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> en estructuras cerebrales en las que se modifica la actividad neuronal en animales tratados con antidepresivos, también disminuye la inmovilidad en la prueba de nado forzado. Por ejemplo, la aplicación de 8-OH-DPAT en el núcleo dorsal del ratón de la rata disminuye la inmovilidad y tal efecto es bloqueado por la administración *in situ* del 1-propranolol y el 1-pindolol, dos antagonistas a los receptores 5-HT<sub>1A</sub>. Lo anterior confirma que la disminución de la inmovilidad provocada por el 8-OH-DPAT está mediada en esencia por acciones agonistas sobre los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, aunque este compuesto también actúa de manera indirecta a los receptores dopaminérgicos en el sistema mesolímbico. La administración de geprona en la rata disminuye la inmovilidad, un efecto que es bloqueado al aplicar simultáneamente antagonistas de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> como el NAN-190. Cabe señalar que al parecer existe cierta selectividad de los antidepresivos por los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, ya que la administración de bloqueadores adrenérgicos como el prazosan y betaxolol y los agonistas a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> como la ketanserina, no bloquean la disminución de la inmovilidad inducida por la geprona. De manera semejante, los agonistas selectivos de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (1-DOB) y de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (m-CPP) no ejercen efectos sobre la prueba de nado forzado.

Por otro lado, la aplicación de dosis pequeñas de ondansetron, un antagonista a los receptores 5-HT<sub>3</sub>, facilita la disminución de la inmovilidad ejercida por los inhibidores de la recaptura de serotonina, mientras que otros agonistas de estos mismos receptores, como el 2-metil-5-HT, carecen de efecto sobre la inmovilidad. Al parecer, la disminución de la inmovilidad ejercida por los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina, también está parcialmente mediada por los receptores postsinápticos 5-HT<sub>3</sub>, puesto que un antagonista a estos receptores (RU-24969) acentúa la disminución de la inmovilidad inducida por la fluoxetina, el citalopram y la fluvoxamina.

De manera general, los datos antes señalados apoyan la suposición de que los efectos de los antidepresivos sobre la inmovilidad están asociados con acciones sobre los receptores de membrana del tipo

D

5-HT<sub>2A</sub><sup>10,11</sup>, lo que por otro lado, representa un sitio común de las acciones de los antidepressivos eficaces clínicamente. Sin embargo, otros subtipos de receptores serotoninérgicos modulan los efectos de los antidepressivos en la prueba de nado forzado. Por lo anterior, si se considera la variedad de los receptores serotoninérgicos no se descarta la posibilidad de que otros receptores estén involucrados en las acciones farmacológicas de los compuestos antidepressivos, por lo tanto, en la disminución de la inmovilidad de los animales forzados a nadar.

### Sistema noradrenergico

El sistema noradrenergico es otro sistema de neurotransmisión que al parecer está involucrado en la depresión y en las acciones farmacológicas de algunos antidepressivos. Los inhibidores de la recaptura de noradrenalina como la imipramina y la desmetilimipramina son antidepressivos eficaces clínicamente<sup>12</sup> y disminuyen la inmovilidad en la prueba de nado forzado<sup>13,14</sup>.

El efecto se establece mediante la interacción con receptores  $\beta$ -adrenergicos<sup>15</sup>, dado que la administración de clombuterol, un agonista  $\beta$ -adrenergico, reduce significativamente la inmovilidad<sup>16</sup>, mientras que el propranolol, un antagonista  $\beta$ -adrenergico, bloquea las acciones de la desmetilimipramina<sup>17</sup> y del clombuterol<sup>18</sup> sobre la inmovilidad. Sin embargo, se ha demostrado que la disminución de la inmovilidad no está mediada de forma única por el sistema noradrenergico, pues la destrucción selectiva de las neuronas noradrenergicas del locus caeruleus con 6-hidroxi dopamina, así como la administración sistémica de un neurotoxico selectivo noradrenergico (DSP-4), no bloquea el efecto de la desmetilimipramina sobre la inmovilidad de los animales forzados a nadar<sup>19</sup>. Estas evidencias hacen suponer que, al menos, la desmetilimipramina también ejerce sus acciones sobre otro tipo de receptores, dado que aun ante la acción selectiva del sistema noradrenergico, este fármaco reduce la inmovilidad.

Al igual que la administración sistémica de algunos antidepressivos, la aplicación *in situ* de imipramina en los núcleos de la amígdala central, basolateral y lateral, decrementa la inmovilidad de los animales en la prueba de nado forzado<sup>20</sup>, lo que apoya la hipótesis de que esta estructura límbica también participa en las acciones farmacológicas del antidepressivo. Del mismo modo, la aplicación del agonista  $\alpha$ -adrenergico y también aplicado de forma directa en el locus caeruleus, reduce la inmovilidad de los animales forzados a nadar<sup>21</sup>.

El (+) tramadol es un analgésico efectivo clínicamente constituido por dos enantiómeros. Uno está identificado como (+) tramadol e inhibe la recaptura de serotonina y el segundo es el (-) tramadol el cual

inhibe la recaptura de noradrenalina<sup>22</sup>. El (-) tramadol disminuye de manera dosis-dependiente la inmovilidad mientras que el (+) tramadol no tiene efectos significativos sobre esta conducta. Quizá el efecto antidepressivo de este fármaco esté mediado de manera particular por la estimulación del sistema noradrenergico y en menor grado por el sistema serotoninérgico<sup>23</sup>.

Es importante señalar que los antidepressivos tricíclicos ejercen sus acciones de forma especial sobre los sistemas serotoninérgico y noradrenergico. La desmetilimipramina y la imipramina son inhibidores de la recaptura de noradrenalina y en menor grado de serotonina, mientras que la clomipramina ejerce sus acciones principalmente al inhibir la recaptura de serotonina<sup>24</sup>. Por lo tanto, la disminución de la inmovilidad ejercida por estos fármacos no puede ser atribuida a uno u otro sistema en especial, sino que parece ser el resultado de la interacción conjunta de las acciones sobre receptores serotoninérgicos y noradrenergicos, sin descartar la participación de otros sistemas de neurotransmisión como el dopaminérgico y el GABAérgico.

### Sistema dopaminérgico

La dopamina es otro neurotransmisor del que se tienen evidencias de que está involucrado en algunos aspectos de la depresión<sup>25</sup> y en las acciones farmacológicas de algunos antidepressivos<sup>26,27</sup>. Mediante la prueba de nado forzado se ha encontrado que los antagonistas dopaminérgicos bloquean la disminución de la inmovilidad ejercida por algunos antidepressivos. El tratamiento crónico con desmetilimipramina disminuye la inmovilidad de los animales forzados a nadar, un efecto que es bloqueado por la aplicación *in situ* en el núcleo accumbens del antagonista dopaminérgico sulpirido<sup>28</sup>. De manera semejante, la aplicación *in situ* del 8-OH-DPAT en el rafe dorsal, pero no en el rafe medio, disminuye la inmovilidad y este efecto es a su vez bloqueado al administrar sulpirido en el núcleo accumbens de la rata<sup>29</sup>. Por otro lado, la aplicación sistémica de sulpirido también bloquea la disminución de la inmovilidad ejercida por la sertralina<sup>30</sup>. Cabe señalar que el haloperidol y la espiperona, al actuar de forma parcial sobre los receptores dopaminérgicos, ejercen efectos similares al sulpirido en ratas tratadas con gepiróna y sometidas al nado forzado.

El pramipexol, un agonista de los receptores D<sub>2</sub>, decrementa la conducta de inmovilidad de los animales forzados a nadar y este efecto anti-inmovilidad es potenciado por la fluoxetina<sup>31</sup>. Asimismo, la administración combinada de fluoxetina con haloperidol es un inhibidor de la recaptura de dopamina, incrementa la disminución de la inmovilidad en la prueba de nado forzado<sup>32</sup>. El análogo del triptano domamiprida (211-1) también

7

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Juan Francisco Rodríguez-Landa et al

Arch Neurocienc (Mex)  
Vol 5, No 2 74-83 2000

los inhibidores de la recaptura de dopamina<sup>27</sup>, el WF-11 y el GBR-12909, ejercen efectos semejantes a los fármacos antidepressivos al disminuir la inmovilidad<sup>28</sup>. No obstante, la aplicación en dosis altas de PTT promueve conductas estereotipadas en la actividad locomotora de los animales<sup>29</sup>, por lo que la disminución de la inmovilidad durante el nado forzado pudiera ser el resultado del incremento de la actividad motora general del animal. Estas evidencias apoyan la hipótesis de que el sistema dopaminérgico también participa en las acciones farmacológicas de los antidepressivos. A la fecha estas suposiciones están siendo exploradas desde diferentes enfoques<sup>30, 31</sup>, lo que ha dado resultados encaminados a lograr un mejor entendimiento de las bases neurobiológicas de la depresión y de las acciones de las terapias antidepressivas.

## Sistema GABAérgico

El ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) está relacionado en especial con la fisiopatología de los trastornos por ansiedad y con las acciones de los agentes ansiolíticos como las benzodiazepinas<sup>32, 33</sup>. No obstante, algunos agentes GABAérgicos promueven disminución de la inmovilidad de los animales forzados a nadar de manera semejante a los antidepressivos<sup>34, 35</sup>. El valproato de sodio, un fármaco eficaz en el control de formas variadas de epilepsia que actúa sobre el complejo de receptores GABA/benzodiazepinas<sup>36</sup>, disminuye la inmovilidad en la prueba de nado forzado sin modificar la actividad locomotora en campo abierto<sup>37, 38</sup>. Este efecto es bloqueado de forma parcial por la administración previa de picrotoxina y de bicuculina, dos antagonistas de los receptores GABA/benzodiazepinas<sup>39</sup>. El biclofen, un agonista a los receptores GABA<sub>A</sub>, bloquea la disminución de la inmovilidad ejercida por la imipramina, pero no modifica las acciones ejercidas por el micumol, un agonista a los receptores GABA<sub>B</sub><sup>40</sup>, lo que señala una cierta especificidad de acciones de los antidepressivos sobre los receptores GABA<sub>A</sub>. En apoyo a esta suposición, la administración de biclofen (pero no de bicuculina) atenúa la disminución de la inmovilidad producida por la desmetilimipramina, la mianserina y la buspirona<sup>41</sup>, lo que indica que al menos estos antidepressivos requieren de la activación disminuye de los receptores GABA<sub>A</sub>. Por otro lado, el micumol da manera dosis-dependiente la conducta de inmovilidad, efecto que es antagonizado por el pretratamiento con picrotoxina<sup>42</sup>. Luego entonces, los receptores GABA<sub>B</sub> al parecer participan en las acciones farmacológicas de los antidepressivos y quizá la activación directa de los receptores GABA<sub>A</sub> se relaciona con algún efecto antidepressivo<sup>43</sup>.

Es importante señalar que el GABA es uno de los neurotransmisores involucrados en el trastorno ansioso, el cual en muchos de los casos precede a la depresión<sup>44</sup>. Este hecho pone de manifiesto que el sistema GABAérgico pudiera estar involucrado tanto en las acciones de los antidepressivos como en la fisiopatología del trastorno depresivo, dado que clínica y experimentalmente se ha observado la coexistencia de ansiedad con depresión<sup>45</sup>. Estas consideraciones abren la posibilidad de realizar estudios más detallados enfocados a identificar la participación del sistema GABAérgico en la patología de la depresión, pues se ha observado que en muchos de los casos los antidepressivos ejercen también acciones ansiolíticas y clínica (para revisión véase Rodríguez-Landa y Contreras 1998)<sup>46</sup> y experimentalmente<sup>44</sup>, lo que muestra una estrecha relación entre el trastorno depresivo y la ansiedad.

## CONCLUSION

Como se ha mencionado a lo largo de esta investigación, la administración de diversos fármacos antidepressivos efectivos clínicamente disminuyen la inmovilidad de los animales forzados a nadar. Al parecer, este efecto es mediado por la interacción con los sistemas de neurotransmisión serotoninérgico, noradrenérgico, dopaminérgico y/o el GABAérgico (cuadro 4). Estas consideraciones han colocado a la prueba de nado forzado como uno de los modelos más utilizados en el estudio de las acciones de los antidepressivos y

Cuadro 4. Efecto de algunos agonistas y antagonistas a receptores neuronales de membrana sobre la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado.

Fármaco	Sistema de neurotransmisión	Mecanismo	Inmovilidad	Referencia
Imipramina	NA y 5-HT	+	↓	(22)
Desmetilimipramina	NA y 5-HT	+	↓	(22)
Buspirona	5-HT	++	↓	(22, 36)
Ipasiprona	5-HT	++	↓	
Flaxoxetina	5-HT	+++	↓	
Flaxoxetamina	5-HT	+++	↓	
Tanflosiprona	5-HT	+++	↓	
Serravallo	5-HT	+++	↓	
Valproato de sodio	GABA	+	↓	(38, 61)
Pranipexol	DA	+	↓	(39, 53)
Riopropam	DA	+++	↓	

NA, noradrenérgico; 5-HT, serotoninérgico; GABA, GABAérgico; DA, dopaminérgico; + inhibidor no selectivo de la recaptura; ++ agonista; +++ inhibidor selectivo de la recaptura; ↓ disminución de la inmovilidad en nado forzado.

F

de los receptores neuronales involucrados en las acciones farmacológicas de estas sustancias.

Los modelos animales de depresión han sido desarrollados con la finalidad de evaluar las acciones de los agentes antidepresivos, intentando reproducir algunas de las características clínicas de la depresión en el modelo experimental<sup>16</sup>. En este sentido se han propuesto criterios para validar dichos modelos basándose en las similitudes existentes entre el modelo experimental y el fenómeno clínico<sup>16</sup>, los cuales se basan en las similitudes de: a) la causa inductora del fenómeno, b) el estado inducido en el sujeto, c) los mecanismos subyacentes al cuadro conductual, y d) los efectos de los tratamientos que clínicamente resultan efectivos<sup>17</sup>. Estos cuatro puntos son identificados en el modelo experimental de nado forzado (cuadro 5), lo que lo valida como un modelo de depresión útil para evaluar las acciones de los antidepresivos y de nuevas sustancias que pudieran ser utilizadas en la farmacoterapia de la depresión.

**Cuadro 5.** Similitud entre la prueba de nado forzado y algunos aspectos de la depresión clínica que validan al modelo experimental para el estudio de las acciones de los antidepresivos.

Observación experimental	Observación clínica
El estado de desesperanza inducido por la prueba de nado forzado en los animales es desencadenado por el factor estresante que implica la prueba. <sup>18</sup>	En la clínica se ha detectado que el estrés es uno de los factores que predisponen al individuo a presentar episodios de ansiedad y/o depresión. <sup>19</sup>
La desesperanza inducida por el nado forzado promueve en el animal abatimiento motor y falta de motivación. <sup>20</sup>	En el paciente deprimido un sintoma característico es el abatimiento psicomotor y la falta de motivación. <sup>21</sup>
El nado forzado ejerce cambios neuroquímicos y fisiológicos en estructuras limbicas como el septum, la amígdala, el hipotálamo y la corteza cerebral. <sup>22</sup>	En la fisiopatología de la depresión participan estructuras del sistema límbico, es decir el septum, el hipotálamo, la amígdala, así como áreas corticales. <sup>23</sup>
Los antidepresivos ejercen efectos clínicos como es la mejora de los síntomas inhibitorios de la respuesta de serotonina al electrodado por el nado forzado, es decir disminuyen la inmovilidad. <sup>24,25</sup>	Los antidepresivos tricyclicos y los inhibidores de la recaptura de serotonina son de los fármacos más indicados en el manejo clínico de la depresión. <sup>26</sup>

Sin embargo, se abren algunas consideraciones. La prueba de nado forzado ha sido criticada dado que el efecto de los antidepresivos sobre la inmovilidad puede ser detectado pocas horas después de la administración de los fármacos<sup>27</sup>, siendo que en la clínica se requiere de algunas semanas para que estas sustancias ejerzan sus acciones terapéuticas<sup>28</sup>. Asimismo, las dosis de los antidepresivos usadas en diversos estudios superan por más de 10 veces la dosis utilizada

en la farmacoterapia<sup>29,31</sup>, lo que podría ser la causa de que el efecto sobre la inmovilidad pueda ser detectado poco tiempo después de su administración. Estas inconsistencias entre las observaciones de laboratorio y la práctica clínica podrían poner en entredicho la validez de la prueba de nado forzado como un modelo de depresión. Sin embargo, se ha demostrado que la aplicación de antidepresivos en dosis equivalentes a las terapéuticas que de manera aguda no ejerce ningún efecto sobre el nado forzado, después del tratamiento crónico tiene la capacidad de disminuir la inmovilidad<sup>32</sup>. Estos datos fortalecen la validación de la prueba de nado forzado como un modelo útil para el estudio de las acciones de los antidepresivos.

Además, en los animales sometidos a la prueba de nado forzado se ha detectado la activación metabólica de diversas estructuras cerebrales que clínicamente están identificadas como participantes en la fisiopatología de la depresión<sup>33</sup>. Por ejemplo, los animales sometidos al nado forzado incrementan el consumo de glucosa en el núcleo septal lateral, en regiones corticales, en el hipotálamo y en la amígdala, un efecto que es revertido por la aplicación del antidepresivo tricíclico imipramina<sup>34</sup>. Por otro lado, en animales forzados a nadar también se ha detectado la expresión del gen *c-fos* que es activado en respuesta a factores estresantes. La activación de este gen se ha detectado de forma específica en estructuras límbicas como el núcleo septal lateral, el hipotálamo, el núcleo amigdalino y otras estructuras como el *locus coeruleus* y algunas regiones corticales, tanto en animales forzados a nadar como en animales con restricción de espacio<sup>35</sup>. Es importante señalar que en el núcleo septal lateral diversas terapias antidepresivas efectivas clínicamente como la isocarboxazida, la clorimiprina, la trazodona, la privación de sueño y el electrochoque incrementan la actividad unitaria extracelular de sus neuronas<sup>36</sup>, efecto que es más acentuado después del tratamiento crónico<sup>37</sup>. Asimismo, el incremento de la actividad unitaria extracelular en esta estructura límbica está relacionado con bajos niveles de inmovilidad en la prueba de nado forzado<sup>38</sup>. Por otro lado, en los animales sometidos a la prueba de nado forzado se encontró que en el núcleo septal lateral y en la amígdala hay disminución de las concentraciones extracelulares de serotonina<sup>39</sup>, mientras que las concentraciones del metabolito de este neurotransmisor, el ácido 5-hidroxiindol acético, disminuye en el estriado, en la corteza frontal, en el hipocampo, en el septum lateral y en la amígdala<sup>40</sup>. Adicionalmente, se encontró que en la sesión de preprueba tanto los sujetos controles como los que fueron tratados con el antidepresivo fluoxetina presentaron disminución de las concentraciones extracelulares de

G

TESIS COM

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Arch Neurocienc (Mex)  
Vol 5, No 2 74-83, 2000

Juan Francisco Rodríguez-Landa et al

serotonina en el núcleo septal lateral. En el segundo día, ya en la sesión de prueba, el nado no ejerció efectos sobre los animales control y disminuyó las concentraciones extracelulares de la serotonina en los animales tratados con el antidepressivo<sup>60</sup>. Así, se ha encontrado una correlación positiva entre las concentraciones extracelulares de serotonina en el núcleo septal lateral con la disminución de la inmovilidad en la prueba de nado forzado.

De manera general, la prueba de nado forzado induce cambios neurofisiológicos en estructuras cerebrales de los animales experimentales, que al parecer participan en la fisiopatología de la depresión. Estos cambios pudieran ser la base neurobiológica de la inmovilidad como respuesta ante la situación estresante que representa el nado forzado. En este sentido, es posible que los antidepressivos al interactuar con los diferentes sistemas de neurotransmisión restablezcan esos cambios en la fisiología cerebral dando como resultado la disminución de la inmovilidad, lo cual como se ha mencionado con antelación es interpretado como un aumento de la motivación del animal por enfrentar la situación de apremio que representa la prueba de nado forzado.

Es importante señalar que las observaciones realizadas en la investigación básica, de ninguna manera pueden ser extrapoladas de manera directa a la práctica clínica. Sin embargo, es una de las herramientas fundamentales para tratar de entender los procesos fisiológicos que subyacen tanto a la fisiopatología de algún trastorno como a las acciones de los fármacos utilizados en su control. En muchos de los casos, los conocimientos clínicos han tenido como punto de partida la investigación básica, por lo que resulta atractivo relacionar ambos campos de la investigación. Para concluir, puede considerarse que los modelos de depresión constituyen una interfase crítica entre la investigación básica y la investigación clínica, que de manera general ayudan a entender los procesos neurobiológicos que subyacen tanto al cuadro depresivo como a las acciones de las sustancias utilizadas en su control.

Como consecuencia se tiene que la prueba de nado forzado es un modelo conductual útil para predecir las acciones de los antidepressivos y explorar los sistemas de neurotransmisión involucrados en las acciones farmacológicas de estas sustancias. En cuanto al significado de la conducta de inmovilidad aun existe controversia en considerarla como un indicador de desesperanza o como una conducta adaptativa. Sin embargo, cualesquiera de los dos casos, las evidencias de que los antidepressivos efectivos clínicamente disminuyen la inmovilidad ha permitido predecir posibles acciones antidepressivas de nuevas sustancias, lo que, de

manera global valida a la prueba de nado forzado como un modelo eficaz para el estudio de las acciones de los antidepressivos y quizá para formular nuevas hipótesis sobre las bases neurobiológicas que subyacen a algunos de los síntomas de la depresión.

## Reconocimiento

El presente trabajo se realizó durante el periodo de una beca para estudios de Maestría, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología al primer autor (CONACyT, Reg. 124885).

## REFERENCIAS

- 1 Contreras CM, Marván ML, Alcalá Herrera V, Guzmán-Sánchez MA, Barradas A, Lara-Morales H. La plasticidad del sistema nervioso y el mecanismo de acción de las terapias antidepressivas. *Salud Mental* 1990; 13:39-48.
- 2 Rodríguez-Landa JF, Contreras CM. Los fármacos antidepressivos y sus acciones en algunas estructuras del sistema límbico. *La ciencia y el hombre* 1998; 10:30,5:1-63.
- 3 Porsolt RD, Lenegre A. Behavioral models of depression. En: Eilat JM, Heal DV, Marsden CA Eds. *Experimental approaches to anxiety and depression*. New York: John Wiley & Sons Ltd, 1992.
- 4 Porsolt RD, Pichon ML, Jalilou M. Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature* 1977; 266:730-2.
- 5 Pichon P. *DSM-IV, Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. 4ta ed. Washington: American Psychiatric Association 1994:345-59.
- 6 Porsolt UD, Anton G, Blavet N, Jalilou M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. *Eur Pharmacol* 1978; 47:379-91.
- 7 Danyś W, Pliznik A, Kostowski W, Miatynska E, Jabło TUC, Hiltunen AJ, et al. Comparison of desipramine, amitriptyline, zimeldine and aliprocetin in six models used to investigate antidepressant drugs. *Pharmacol Toxicol* 1988; 62:42-50.
- 8 Horsem F, Meli A. The forced swimming test: its contribution to the understanding of the mechanism of action of antidepressant. En: Gessa GL, Serra G Eds. *Dopamine and mental depression*. New York: Pergamon Press 1990:63-76.
- 9 Cervo L, Gignasho G, Rossi C, Saranin R. Role of central serotonergic neurons in the effect of sertraline in rats in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 1991; 196:217-27.
- 10 Lucki I, Singh A, Kress ID. Antidepressant-like behavioral effects of serotonin receptor agonists. *Neurosci Biobehav Rev* 1994; 18:45-55.
- 11 Bernardi M, Genetani S, Tagliavini S, Bertolini A. Effects of the castration and testosterone in experimental models of depression in mice. *Behav Neurosci* 1989; 103:1148-50.
- 12 Bernardi M, Vergoni AV, Sandini V, Tagliavini S, Bertolini A. Influence of ovariectomy, estradiol and progesterone on the behavior of mice in an experimental model of depression. *Physiol Behav* 1989; 45:1067-68.
- 13 Martínez-Mota L, Contreras CM, Saavedra M. Progesterone reduces immobility in rats forced to swim. *Arch Med Res* 1999; 30(4):286-9.
- 14 Bultowicz W, Pienet F, Wintjuff H, Nabstredt A. Solubilized hypericum and pseudo-hypericin from *Hypericum perforatum* exert antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Med* 1998; 64(4):291-4.

15. De Vry J, Maurer S, Schreiber R, De Beun R, Jantsch KR. Comparison of hypothalamic extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 9(6): 461-8.
16. Borsini F, Meli A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology* 1988; 94: 174-60.
17. Bruner CA, Vargas I. The activity of rats in a swimming situation as a function of water temperature. *Physiol Behav* 1994; 55: 21-8.
18. Borsini F, Lucini A, Sestrega A, Frassinetti R, Meli A. Discovery of antidepressant activity by forced swimming test may depend on pre-exposure of rats to a stressful situation. *Psychopharmacology* 1989; 97: 187-8.
19. Borsini F, Volterra G, Meli A. Does the behavioral "despair" test measure "despair"? *Physiol Behav* 1996; 38: 385-6.
20. Nishimura R, Tsuda A, Ojuchi M, Usui Y, Tanaka M. Immobility of rats in the forced swim test: behavioral despair? *Physiol Behav* 1988; 42: 93-5.
21. De Patro JM, Parra A, Segovia S, Gullamón A. Learned immobility explains the behavior of the rats in the forced swimming test. *Physiol Behav* 1989; 46: 229-37.
22. Wieland S, Lucki I. Antidepressant-like activity of 5-HT<sub>1A</sub> agonist measured with the forced swim test. *Psychopharmacology* 1990; 101: 497-504.
23. Abel EL, Blitcke PJ. A possible alarm substance in the forced swimming test. *Physiol Behav* 1990; 48: 233-9.
24. Abel EL. Gradient of alarm substance in the forced swimming test. *Physiol Behav* 1991; 49: 321-3.
25. Abel EL. Behavior and corticosterone response of Maudsley reactive and nonreactive rats in the open field and forced swimming test. *Physiol Behav* 1991; 49: 151-3.
26. Abel EL, Blitcke PJ. Adrenal activity does not mediate alarm substance reaction in the forced swim test. *Neuroendocrinology* 1992; 17(2-3): 255-9.
27. Abel EL. Response to alarm substance in different rat strains. *Physiol Behav* 1991; 51(2): 345-7.
28. DeRo M, Lucki I. Deletion of serotonergic and monoaminergic antidepressant in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behav Brain Res* 1996; 73: 43-6.
29. West AF. Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swimming test. *Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiat* 1990; 14: 863-77.
30. Owens NJ, Nemeroff CB. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem* 1994; 40(2): 28B-9E.
31. Sánchez C, E Meier. Behavioral profiles of SSRIs in models of depression, anxiety and aggression. *Psychopharmacology* 1977; 129: 197-205.
32. Cervo L, Giorgianni G, Samanin R, Beyerle J, Zini R, propylatino) tetrahydro- $\beta$ -carbolino Serotonina receptor agonist reduces the immobility of rats in the forced swimming test by acting on the nucleus raphe dorsalis. *Eur J Pharmacol* 1988; 158: 63-9.
33. Chojnacka-Wójcik E, Talarzyńska E, Gólmowski K, Przegalski E. Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the antidepressant-like activity of desipramine in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology* 1991; 30(7): 733-737.
34. Kostowski W, Dyr E, Zyzanski P, Jarbo E, Archer T. 5-Hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor agonist in models of depression and anxiety. *Pharmacol Toxicol* 1992; 71: 24-30.
35. Redrobe JP, Bourn M. Parallel role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the activity of antidepressant in the mouse forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 1997; 325: 2: 129-35.
36. Redrobe JP, McSweeney CP, Bourn M. The role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in antidepressant drugs actions in the mouse forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 1996; 318: 2: 3: 213-20.
37. Baldessarini RJ. Los fármacos y el tratamiento de enfermedades psiquiátricas. En Goodman GA, Ral TW, Niens AS, Taylor P, editors. *Los bases farmacológicas de la terapéutica*. México DF: Médica Panamericana; 1991.
38. Borsini F, Bendotti C, Velkov V, Rech R, Samanin R. Imobility test: effect of 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor drugs and of catecholamines in the activity of some antidepressant. *J Pharm Pharmacol* 1981; 33: 33-7.
39. Rénebic JP, Lucki I. Antidepressant behavior effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 135: 2: 190-7.
40. Duncan GE, Paulia, Harden TK, Mueller RA, Stumpf WE, Breese GR. Rapid down regulation of beta adrenergic receptors by combining antidepressant drugs with forced swim. A model of antidepressant-induced neural adaptation. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 234: 402-8.
41. Finnegan KT, Terwilliger MM, Berger PA, Hollister LE, Caserninsky JG. A comparison of the neurochemical and behavioral effects of clemastine and desipramine. *Eur J Pharmacol* 1987; 134: 2: 131-6.
42. Esposito E, G Ossawski R, Samanin R. Further evidence that noradrenaline is not involved in the antiimmobility activity of chronic desipramine in the rat. *Eur J Pharmacol* 1987; 136: 429-32.
43. Duncan GE, Breese GR, Grayell H, Stumpf WE, Mueller RA, Coyv J. Effects of intracerebral drugs injected into the amygdala on behavioral responses of rats in the forced swim test. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 238(2): 758-62.
44. Weiss JM, Simpson PG, Hoffman LJ, Ambrose MJ, Cooper S, Webster A. Infusion of adrenergic receptor agonists and antagonists into the locus coeruleus and ventricular system of the brain. Effects on swim-motivated and spontaneous motor activity. *Neuropharmacology* 1986; 25: 4: 867-88.
45. Rojas-Carrión MO, Gilber Rahof J, Mico JA. Tramadolo antidepressante y efecto in mice. *Life Sci* 1998; 63: 12: 175-80.
46. Randrup A, Munkvad I, Fog J, Gotfanch J, Molander L, Kjellberg B, et al. Mania depression and brain dopamine. En Esman WB, Valzelli L, eds. *Current developments in psychopharmacology*. New York: Spectrum Publication; 1975: 207-29.
47. Shih K, Mann JJ. Role of dopaminergic system in depression. *Biol Psychiat* 1992; 91: 75-83.
48. Roy A, Jong D, J. Linolia M. Cerebrospinal fluid monoamine metabolites and suicidal behavior in depressed patients. *Arch Gen Psychiat* 1989; 46: 809-12.
49. Brown AS, Geshwin S. Dopamine and depression. *J Neural Transm* 1993; 91: 75-83.
50. Wälzler P. The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action. *Int Clin Psychopharmacol* 1997; 12: 2: 14.
51. Borsini F, Nowakowski E, Samanin R. Effect of repeated treatment with desipramine in the behavioral "despair" test in rats. Antagonism by atypical but not classical neuroleptic or antidepressant drugs. *Life Sci* 1984; 34: 1171-8.
52. Cervo L, Samanin R. Evidence that dopamine mechanism in the nucleus accumbens are selectively involved in the effect of desipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology* 1987; 26: 10: 1469-72.
53. Miq J, Rogoz Z, Skuza G, Kondziejczyk K. Antidepressant effect of pramipexole: a novel dopamine receptor agonist. *J Neural Transm* 1997; 104 (4-5): 525-33.

I  
FALLA DE UNIDAD

FALLA DE ORIGEN

Juan Francisco Rodríguez-Landa et al

54. Hamby SE, Lucki I, Gatto G, Singh A, Thornley C, Malasi J, et al. Potential antidepressant effects of novel tropane compounds: selective for serotonin or dopamine transporters *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282(2): 227-33

55. Willner P, Muscat R, Papp M, Simpson D. Dopamine, depression and antidepressant drugs. En Willner P, J Schell-Kruger. Eds. The mesolimbic dopamine system: from motivation to action. New York: John Wiley & Sons Ltd. 1991.

56. Petty F, Kramer GL, Fulton M, Mueller G, Rush AJ. Low plasma GABA is a trait like marker from bipolar illness. *Neuropsychopharmacology* 1993; 9: 125-7

57. Rodríguez-Landa JF, Contreras CM. Algunos datos recientes sobre la fisiopatología de los trastornos por ansiedad. *Rev Biomed* 1998; 9(3): 181-91

58. Fernández-Teurlet A, Boix F, Escorihuela RM, Yañez P, Tobeña A. Sodium valproate reduces immobility in the behavioral "despair" test in rat. *Eur J Pharmacol* 1988; 152: 1-7

59. Flügge A, Magliano M, Cannizzo C, Navarra V, Cannizzo G. Antidepressant and anxiolytic effects of alprazolam versus the conventional antidepressant desipramine and the anxiolytic diazepam in the forced swim test in the rat. *Eur J Pharmacol* 1992; 214: 223-38

60. Rait TW, Schieller LS. Fármacos efectivos en el tratamiento de la epilepsia. En Goodman CA, Rait TW, Nieves AS, Taylor P. Eds. *Los bases farmacológicas de la terapéutica*. Rva de México: D F. Médica Panamericana. 1991.

61. Fernández-Teurlet A, Boix RM, Escorihuela, I, Guix A, Tobeña A. Activity of several GABAergic agents on the behavioral "despair" test in rats. *Psychiatr Psychobiol* 1989; 4: 167-73

62. Nakajawa Y, Ishima T, Ishibashi Y, Yoshii Y, Takashima T. Involvement of GABA(B) receptor systems in action of antidepressants baclofen but not baclofen attenuates the effects of antidepressant on the forced swim test rats. *Brain Res* 1996; 709: 2,215-20

63. Breslau N, Schultz L, Peterson E. Sex differences in depression: a role for provoking anxiety. *Psychiatr Res* 1995; 58: 1-12

64. Fernández-Guasti A, Martínez-Mota L, Estrada-Camarera E, Contreras CM, López-Rubalcava C. Chronic treatment with desipramine induces an estrous cycle dependent anxiolytic like action in the burying behavior, but not in the elevated plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 63: 1, 13-20

65. Persault RD, Lenczner A, McArthur RA. Pharmacological models of depression. En: Olivier V, Mos J, Siangon JL. Eds. *Animal models in psychopharmacology: advances in pharmacological sciences*. Switzerland: Birkhäuser Verlag. 1991

66. Willner P. Animal models as simulations of depression. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 4: 131-6

67. McKinney WT, Bunney WF. Animal model of depression. I. Review of evidence: implications for research. *Arch Gen Psychiatr* 1969; 240: 8

68. Frazer A. Antidepressant drugs. *Depression* 1994; 2: 1-19

69. Kitada Y, Miyauchi T, Satoh A, Satoh S. Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 1981; 72: 145-52

70. Miyauchi T, Kitada Y, Satoh S. Effects of acutely and chronically administered antidepressant on the brain regional 3-methoxy-4-hydroxyphenylethylglycol sulfate in the forced swimming rat. *Life Sci* 1981; 29: 192-8

71. Mancinelli A, D'Aranno V, Borsini F, Mola A. Lack of relationship between effect of desipramine on forced swimming test and brain levels of desipramine or its demethylated metabolite in rats. *Psychopharmacology* 1987; 92: 441-3

72. Detke MJ, Jhonson J, Lucki I. Acute and chronic antidepressant drugs treatment in the rat forced to swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol* 1997; 5(2): 107-12

73. Strangor PG. *Brain biochemistry and brain disorders*. New York: Oxford University Press, 1992: 258-292

74. Duncan GE, Jhonson KB, Breese GR. Topographic patterns of brain activity in response to swim stress: assessment by 2-deoxyglucose uptake and expression of Fos-like immunoreactivity. *J Neurosci* 1993; 13(9): 3932-43

75. Cullinan WE, Herman JP, Battaglia DF, Akil H, Watson SJ. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience* 1995; 64: 2,477-505

76. Contreras CM, Alcalá-Herrera V, Marvan MI. Action of antidepressant on the septal nuclei of the rat. *Physiol Behav* 1989; 46: 743-8

77. Contreras CM, Marvan MI, Alcalá-Herrera V, Guzmán-Saiz MA. Chronic clomipramine increases firing rate in lateral septal nuclei of the rat. *Physiol Behav* 1990; 48: 551-4

78. Contreras CM, Molina M, Saavedra M, Martínez-Mola L. Lateral septal firing rate increases during proestrus estrus in the rat. *Physiol Behav* (en prensa).

79. Kirby LG, Allen AR, Lucki I. Regional difference in the effects of forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindolacetic acid. *Brain Res* 1995; 682: 1, 2, 189-96

80. Kirby LG, Lucki I. Interaction between the forced swimming test and fluoxetine treatment on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindolacetic acid in the rat. *J Pharm Ther* 1997; 282: 961-76

81. Akil HA, Morano MI. Stress. En: Bloom FE, Kupfer DJ. Eds. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven, 1995

H

#### APÉNDICE V

Contreras CM, Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez-García AG, Bernal-Morales B. The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *Journal of Psychopharmacology* 2001. 15(4):231-236.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat

Carlos M. Contreras, Juan Francisco Rodríguez-Landa, Ana G. Guterrez-García and Blandina Bernal Morales

Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neurobiología, Universidad Veracruzana and Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Xalapa, Veracruz, México

The administration of a relatively high dose of antidepressant drugs produces an increased neuronal firing rate of the lateral septal nucleus (LSN) in the rat and a decreased immobility in rats forced to swim. However, it is unknown whether a minimally effective low dose 21 day treatment with the selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine, while reducing immobility in the forced swim test, also increases the neuronal firing rate of the LSN in Wistar rats. The total time of immobility decreased with a daily injection of 0.5–1.0 (or 2.0 mg/kg of fluoxetine ( $p < 0.001$ ), and the lowest dose increasing the latency to the first immobility period ( $p < 0.0001$ ) was 1.0 mg/kg. Therefore, the action of the 21 day fluoxetine treatment (1.0 mg/kg) on the firing rate of LSN neurons was tested in another group of rats. A total amount of 78 single-unit extracellular recordings was taken from the LSN of eight control rats ( $n = 40$ ) and eight fluoxetine-treated rats ( $n = 38$ ). The LSN firing rate in the fluoxetine group was double ( $413.3 \pm 25.5$  spikes per 10 s,  $p < 0.05$ ) that in the control group ( $7.0 \pm 0.9$  spikes per 10 s), and the first-order interval of firing proved to be significantly lower in the fluoxetine group compared to the control group ( $384.3 \pm 22.3$  and  $639.7 \pm 27.5$  ms, respectively,  $p < 0.05$ ). In conclusion, the increased neuronal firing rate of the LSN in the animals treated with a low dose of fluoxetine may be associated with an increased motivation to escape from the stressful situation that the forced swim represents.

**Key words:** antidepressants, fluoxetine, forced swim test, immobility; lateral septal nucleus, serotonin reuptake inhibitors

### Introduction

A decrease in the neuronal firing rate of the lateral septal nucleus (LSN) is associated with emotional states characterized by anxiety and fear, namely during the anticipation of an aversive stimulus (Thomas, 1988; Thomas *et al.*, 1991; Yadon *et al.*, 1993) although the delivery of positive reinforcement increases its neuronal firing rate (Yadon and Thomas, 1981), and the electric stimulation of the LSN may be used as a conditioned stimulus (Kjelson and Thompson, 1989). Hence, the neuronal firing rate in the LSN increases after the acute administration of several clinically effective antidepressants such as clomipramine, nortriptyline, imipramine, or even sleep deprivation and electroconvulsions (Contreras *et al.*, 1989, 1990b), and this increase reaches maximum values in the time rate after 2 weeks of treatment with a relatively low dose of clomipramine (1.25 mg/kg, twice a day) (Contreras *et al.*, 1990). Therefore, the neuronal activity of the LSN is related to motivational aspects of behavior (Thomas, 1988; Contreras *et al.*, 1993). For example, the neurons from both the dorsal and intermediate aspects of the LSN increase their firing rate during the

vestal phases of the rat characterized by plasma high levels of gonadal hormones, concurrently with low immobility rates in the forced swim test (Contreras *et al.*, 2000). However, there is a scarcity of studies associating neuronal activity with well defined behavioural tests to explore antidepressant actions.

Immobility in rats forced to swim decreases after the administration of diverse clinically effective antidepressants (Porsolt *et al.*, 1977; Borsini and Meli, 1988), suggesting an increased motivation to escape from the constraining situation that swimming represents. In particular, clomipramine (375 mg/kg subcutaneous) decreases immobility in the forced swim test (Porsolt *et al.*, 1977) and a low (1.0 mg/kg) dose of imipramine (10 days) also increases the firing rate of the LSN neurons (Molina *et al.*, 1996). There is a possible relationship between an increased neuronal firing rate of the LSN and decreased immobility in the forced swim test associated with the administration of antidepressants.

Notably, data from single-unit recordings and the forced swim test have been obtained from animals that were not selected with respect to their actions on specific neurotransmission systems, and the dose continues to be low (0.5–1.0 mg/kg) relatively high irregularly

A

10 mg/kg. In this sense, thiothixene is a centrally effective (Serrati et al., 1997), selective serotonin reuptake inhibitor (Ficker and Wong, 1991), which decreases immobility in animals forced to swim (Kilbey et al., 1997; Kirby and Lucki, 1997; Renner and Lucki, 1998). However, it is unknown whether the thiothixene dose that reduces immobility in the forced swim test also increases the normal trier rate of the FSN as reported for other non-specific antidepressants (Comas et al., 1989, 1990). Therefore, in the present study, we determined the minimum effective thiothixene dose that decreases the immobility in the forced swim test to determine its actions on the trier rate of the FSN in mice.

## Methods

### Animals

We used 51 male Wistar rats, aged 3 months and weighing 300–350 g at the beginning of the study. The animals lived in housing facilities in Plexiglass cages (six animals per cage) at an average temperature of 25 °C (h, l, C) and *ad libitum* access to water and food with an artificial light/dark cycle of 12/12 h (light on at 07:00 h). All experiments were carried out in accordance with the guide for care and use of laboratory animals issued by the National Institutes of Health.

### Behaviour

The effect of 21 day thiothixene administration on intrasaphagel route on immobility in the forced swim test was evaluated in 38 rats. Four groups of rats ( $n = 7$  each) were given received 0.25, 0.5, 1.0 or 2.0 mg/kg of thiothixene (Phoxac, ELSA, Compañía Mexicana SA de CA, Mexico, DF) and a fifth group ( $n = 7$ ) received vehicle (saline solution). All treatments were administered once a day during 21 days (08:00 h) in a volume equivalent to 0.5 ml per 100 g through a disposable, sterilized, intrasaphagel polyethylene catheter (8 × 8 FHL, Cole Parmer Co., Vernon Hills, IL, USA). Each rat had a 1.0 mm diameter, conical tip to a disposable, stainless steel (D-D Plastipak, Becton Dickinson and Co., Mexico). The behavioural tests were carried out between 19:00 h and 21:00 h.

### Open field test

Open field locomotor activity was defined as immobility in the forced swim test (Wieland and Lucki, 1990) on the 20th and 21st days. In order to define the thiothixene administration, all rats were individually submitted to a 5 min videotaped open field test. Only data coming from the second session were statistically evaluated, since the first session was used for habituation to the novel situation. We used an opaque Plexiglas cage (44 × 33 cm) with walls 20 cm in height. The floor was divided into 17 squares (11 × 11 cm). At the beginning of the trial, the animal was gently placed in the center of the corner of the cage. The number of times that an animal crossed any square with its four paws (crossings) was evaluated. After each test, the cage was automatically cleaned with a solution containing ammonia (0.5% standard 15% extract 10% reagent) at 15 min (D) and water (20).

### Forced swim test

Immediately after the last habituation open field test, on the 20th day of thiothixene or saline treatment, all rats were submitted to a 5 min videotaped forced swim session, during which the animals

confronted a new emergency situation represented by swimming. This allowed us to assess the development of immobility. Each rat was individually placed in a rectangular pool (30 × 30 × 40 cm) containing water (25 °C (h, l, C) 23 cm in depth). Afterwards, the animals were removed from the water and dried under a lamp. On the 21st day of treatment, in a 5 min videotaped test session, they were forced to swim again. Two independent observers assessed the total duration of immobility and the latency to the first immobility period in videotaped sessions. Immobility was assumed when the rat touched the bottom of the pool (making at least two points of contact) or with one or both hindlimbs on the tail, or when it floated (making only the movements necessary to maintain its head above the surface of the water, but without any displacement). For statistical analysis, only those results coming from the test session were taken into account.

The data obtained from locomotor activity and the forced swim test were analysed through the one way ANOVA test for independent groups, and Dunnett's test was applied *post hoc* when the differences reached  $p < 0.05$ . In order to determine whether the actions of thiothixene differences in the locomotor activity and the forced swim test are related, a possible correlation between crossings in the open field and immobility in the forced swim test was also explored (Pearson's  $r$  test).

The thiothixene dose for the study of the spontaneous single unit extracellular activity of the FSN was selected from this behavioural experiment.

### Electrophysiology

We included two main groups of rats, one group received intrasaphagely 1.0 mg/kg (0.5 ml of 2 mg/ml of thiothixene ( $n = 8$ )) and the other group the vehicle (saline solution,  $n = 8$ ), during 21 days at 08:00 h. On the 21st day, 1 h after the last administration of saline or thiothixene, the animals received an initial injection of 1 mg/kg of chloral hydrate (0.1 ml/kg, i.p.), followed by one tenth of this dose every 100 min to sustain deep anaesthesia. The head of the animal was fixed in a stereotaxic frame (Stereotaxic World, Inc., USA) with the incisor bar set at +5.0 mm. A midline incision uncovered the skull and through a small trepanation, a glass micropipette filled with NaCl 1 M (4.5 MΩ) was descended through an hydraulic micromanipulator (Femto Wells, Inc., San Jose, CA, USA) towards the dorsal and intermediate aspects of the lateral septal nucleus in the following stereotaxic coordinates (Paxinos and Watson, 1982): AP, -0.2 mm from bregma; L, -0.8 mm from midline; and from 300–500 μm beneath the surface of the cerebral cortex. The spontaneous single unit extracellular activity captured by the micropipette was sent to an amplifier (Grass, PSTH, Quincy, MA, USA) with filters set at 300 Hz and 5 kHz, connected in parallel to an audio amplifier and to an oscilloscope (Tektronix, T1114, Beaverton, OR, USA), which received a filtered signal by means background noise through a window amplifier. Each recorded spike coming from the amplifier (at a rate 555) passed through which delivered square pulses of constant amplitude and duration (0.6 ms, 1 V) by the serial port of a PC provided with software designed for the analysis of the firing rate. A criterion of at least 5 min without sudden changes in the firing rate and in the spike amplitude was considered to indicate the stabilization of single unit extracellular activity. The firing rate was then analysed on line for 9 min and the software delivered firing rate histograms (mean and standard

B



Table 1. The values represent the mean  $\pm$  SE of the crossing of the animals during the 5-min test

Control	Fluoxetine mg/kg			
	0.25	0.5	1.0	2.0
Mean $\pm$ SE	30 $\pm$ 8.90	21 $\pm$ 4.4	18 $\pm$ 2.90	17 $\pm$ 2.70

$p < 0.05$  versus control group. Dunnett test

error of firing rate (10 s epochs), mean firing interval and the variation coefficient (the standard deviation divided by the mean firing rate). Given that we used electrodes with relatively low impedance, in some instances we picked up more than one neuron and, in such cases, two criteria were used to discriminate between the signals: (a) the recording taken from one or more neurons fired with different size, but also different regularity, in which case a window discrimination allowed the choosing of only one neuron for recording; and (b) by determining the microcapacities at least 100  $\mu$ m apart from the previous registered neurons to ensure different fields of recording.

At the end of the experiment, the last recorded site was marked by direct current (5 mm each polarity). The rat was then perfused intracardially with 50 ml of saline solution (0.9%), followed by 50 ml of formaldehyde (2%). The brain was removed, and frozen sections were cut (30  $\mu$ m) using a cryostat (anatomical, H.C.A., H. St. Sussch, West Germany). The Nissl technique allowed the identification of the last recorded point and, with the aid of stereotaxic coordinates, the path followed by the electrode was reconstructed. For analysis of data, we included only those

recordings obtained from the LSS. In fact, three recordings from saline and five from fluoxetine groups were discarded.

The neuronal firing rate, the mean firing interval and the variation coefficient were analysed by the Mann-Whitney  $U$  test since the data failed to follow a normal distribution. Only differences attaining  $p < 0.05$  were considered significant and the results are expressed as mean  $\pm$  standard error.

For both immobility in the forced swim test and the LSS neuronal firing rate, individual differences were exploited by calculating the percentage of animals or neurons, respectively, corresponding to the extreme data surpassing the value of one mean value  $\pm$  1 SD from the saline group.

### Results

#### Open field test

Fluoxetine significantly [ $F(4,30) = 4.89, p < 0.003$ ] decreased crossing in a dose-dependent manner and the post hoc test ( $\alpha < 0.05$ ) indicated that this effect occurred from a dose of 1.0 mg/kg (Table 1).

#### Forced swim test

In the forced swim test, fluoxetine decreased the total time of immobility [ $F(4,30) = 6.0, p < 0.001$ ] and increased the latency to the first immobility period [ $F(4,30) = 14.0, p < 0.0001$ ] in a dose-dependent manner (Fig. 1). The post hoc test revealed that 1.0 mg/kg was the lowest effective dose in reducing the total time of immobility and in increasing the latency to the first immobility

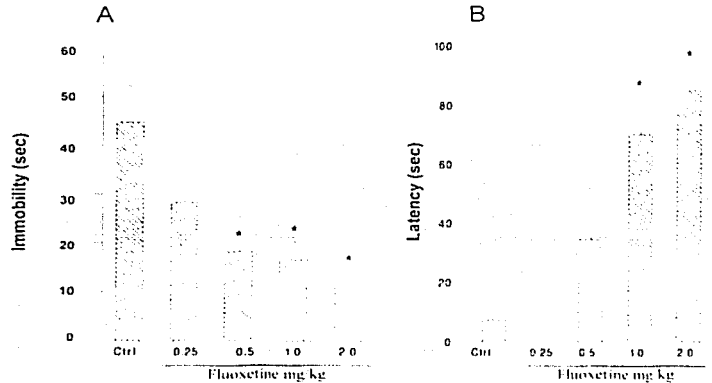
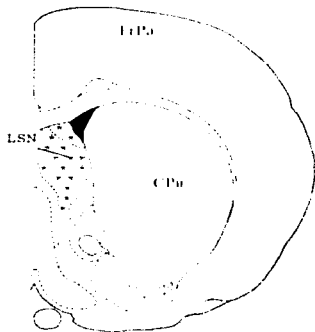


Figure 1. Immobility of fluoxetine-treated animals in the forced swim test. Total time of immobility (A) and latency to the first immobility period (B) were significantly reduced and increased, respectively, by the administration of 1.0 and 2.0 mg/kg of fluoxetine, as well as 1.0 and 2.0 mg/kg of fluoxetine plus increased the latency to the first immobility period ( $p < 0.0001$ ) in a dose-dependent manner ( $p < 0.0001$ ) compared to the control group.

©



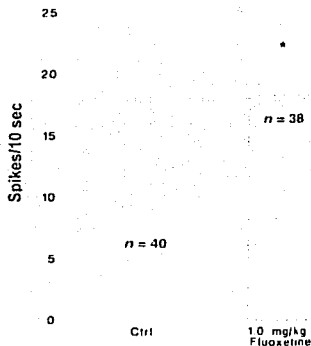
**Figure 2.** Histological reconstruction of the recorded area in the lateral septal nucleus. Marks represent the septal and extracellular recording sites: LSN, lateral septal nucleus; CPu, caudate putamen; LTP, monopolar contact (Paxinos and Watson, 1987).

period ( $p < 0.05$ ). However, reduced immobility occurred in 29% with the lowest tested dose (0.25 mg/kg), 64% with 0.5 mg/kg, 93% with 1.0 mg/kg and 100% with a dose of 2.0 mg/kg of fluoxetine. The analysis of correlation between crossing in the open field test and immobility in the forced swim failed to produce any significant data ( $r = 0.386$ ). From these results, the dose of 1.0 mg/kg (21 days) was selected for single-unit extracellular recording of LSN.

#### LSN firing rate

We obtained 78 single-unit extracellular recordings from the LSN (amplitude 88.7 mV,  $r = 0.5$ ) at a mean depth of 3.9 mm ( $\pm 0.09$ ) beneath the surface of the cerebral cortex (Fig. 2). From the total amount of recordings, 40 were obtained from the control group ( $n = 8$  rats) and 38 from the group treated during 21 days with 1.0 mg/kg of fluoxetine ( $n = 8$  rats). The average firing rate of LSN neurones was recorded.

The effect of the administration of fluoxetine on the LSN neuronal firing rate is shown in Fig. 3. From the histological analysis and the reconstructed paths traced by electrodes, the recorded neurones corresponded to the dorsal and ventral subnuclei aspects of the LSN (330–580  $\mu$ m from the cortical surface). The analysis of data revealed that the LSN neuronal firing rate in the group treated with fluoxetine during 21 days (LSN: 2.28 spikes per 10 sec) was significantly increased ( $p < 0.05$ ) compared to the control group treated with saline ( $n = 0.09$  spikes per 10 sec). The mean first order interval of firing in the group treated with fluoxetine (384.1  $\pm$  22.1 ms) proved to be significantly lower ( $p < 0.05$ ) than that of the control group (679.1  $\pm$  27.8 ms), and no significant changes were found in the variation coefficient between the control group (4.76  $\pm$  1.8%) and the fluoxetine group (5.33  $\pm$  2.28%). In spite of this statistical significance, only the fluoxetine group



**Figure 3.** Single-unit extracellular activity of the lateral septal nucleus of the rat treated with 1.0 mg/kg of fluoxetine. Neurones from animals treated with fluoxetine during 21 days increased their firing rate compared to control group (Ctrl). \* $p < 0.05$  Mann-Whitney  $U$  test.

approximately 65.8% of recorded neurones fired, surpassing the mean ( $\pm$  1 SD) of the saline group but, for all of them, the intermediate aspect of the LSN was identified as the recorded point.

#### Discussion

The aim of the present study consisted of defining the action that the minimal 21 day effective dose of fluoxetine in the forced swim test exerts on LSN neuronal activity in an independent group of rats. The main findings showed that 1.0 mg/kg of fluoxetine decreased the crossing (approximately 50%), decreased the total time of immobility (approximately 50%), increased the latency to the first period of immobility (approximately eight fold) and increased the LSN firing rate (approximately two fold).

An increase in locomotor activity may decrease the motivational effects produced by antidepressants, as occurs with stimulants of the central nervous system (Borsini *et al.*, 1977; Weiland and Lucki, 1990). Our results were not related to any locomotor stimulant action exerted by the antidepressant treatment since, in the open field test, fluoxetine (injected) by decreased crossing in a dose dependent manner. This finding is consistent with other reports stating that the reduced immobility produced by antidepressants is not associated with changes in locomotor activity (Weiland and Lucki, 1990; Coombs *et al.*, 1993).

We applied the forced swim test (Dorosh *et al.*, 1977) with modifications in the size and shape of the pool (30  $\times$  50  $\times$  60 cm), recirculation and obtained other measurements, such as the latency to the first period of immobility plus the total time spent in immobility. Using a behavioral pool with an increased water level (Deky *et al.*, 1995; Deky and Lucki, 1996), fluoxetine (5 and

20 mg/kg, 23.5 h, 5 h and 1 h before the test) was shown to decrease immobility in a modified forced swim test. In our study a low dose of fluoxetine (10 mg/kg, 21 days) significantly reduced immobility in the forced swim test. Our data are consistent with another study in which a fluoxetine or desipramine regimen (1, 2 and 3 mg/kg, 14 days) produced similar results, whereas a subchronic regimen (23.5 h and 1 h before the test) failed to reduce immobility (Kettle *et al.*, 1997). It seems therefore that behavioural actions produced by low doses of antidepressants are observed only after a treatment lasting several weeks, which may reflect some adaptive changes at the neuronal receptor level that require some time to become evident (Conteras *et al.*, 1990; Duncan *et al.*, 1993).

Immobility in the forced swim test is considered as an indicator that the animal lacks motivation for solving a problem. In consequence, the decrease in immobility produced by diverse antidepressant drugs has been interpreted as an increase in motivation to escape from the stressful situation (Porsolt *et al.*, 1977; Weiland and Lucki, 1990). Besides, the latency to the first period of immobility is proposed as an indicator of the length of the first effort to escape from the stressful situation; that the forced swim test represents (Conteras *et al.*, 1998; Espayo and Miranda, 1999). In our study, we found that fluoxetine (10 mg/kg, 21 days) significantly increased the latency to the first immobility period, suggesting that fluoxetine increased the effort displayed by the rat to escape from the stressful situation; that the forced swimmer seems to indicate.

The forced swim test increases the mRNA expression of genes *c-fos* (Gillman *et al.*, 1998) and increases the glucose consumption (Duncan *et al.*, 1993), mainly in the ventral portion of LSN, but decreases the serotonin extracellular concentrations in the whole of LSN (Kobayashi *et al.*, 1998). Furthermore, we suppose a relationship between LSN electrical neuronal activity and immobility in the forced swim test, a matter which had not been explored. In this sense, the following data and the present findings could support such a hypothesis.

The reduced immobility in the forced swim test produced by desipramine is absent in animals submitted to an early lesion to the dorsal and intermediate aspects of the LSN (Conteras *et al.*, 1993). Consistent with this, the fluoxetine dose that reduced immobility and increased the latency to the first period of immobility (10 mg/kg, 21 days) significantly increased the LSN neuronal firing rate as well, and consequently reduced the intervals of time to a regular manner, as indicated by the constancy of the coefficient of variation. The changes in LSN firing rate were observed mainly in its intermediate portion, in concordance with previous observations (Conteras *et al.*, 1989, 1990, 1993), in a neuronal population that seems to be only slightly affected in regard to an increased expression of *c-fos* activity in stressful situations. Therefore, these data may reflect a neuronal organization of the LSN in which more ventral aspects depend on a differential neuronal circuitry than upper LSN regions. In fact, to explain the present data on mice EEG activity, it must be taken into account that the hippocampus sends fibres to the dorsal aspect of the LSN that possess a dorsoventral column (dorsal, intermediate and ventral aspects) connected with the medial septal region which sends fibres back to the hippocampus (Lakatos and Leitch, 1993), which may also explain neuronal *c-fos* expression and actions of antidepressants.

Antidepressants produce an increased availability of 5-HT in

the synaptic cleft (Human *et al.*, 1997) and 5-HT reduces the spontaneous activity of LSN neurons (Segal, 1974). The inhibitory effect of 5-HT on the LSN neuronal firing rate is related to an increased conductance of K<sup>+</sup> ions, but the action of 5-HT on IPSP and on afterhyperpolarization may produce excitatory actions in the LSN; therefore, 5-HT actions on LSN neuronal activity seem to be dependent on synaptic input (Jacks *et al.*, 1980; Jacks and Gallagher, 1988). The LSN neurons which increase their firing rate after antidepressant treatments are those which receive an inhibitory input from the hippocampus (Mayeux *et al.*, 1992) but an excitatory input coming from the dorsal raphe nucleus of midbrain (Conteras *et al.*, 1993a). The LSN receives inhibitory serotonergic afferences from the dorsal raphe nucleus, the main serotonin reservoir (Baldwin and Eric, 1994) and serotonin *in situ* diminishes the firing rate in the LSN neurons (Sest, 1974; Jacks and Urban, 1985). Likewise, the systemic application of non selective or selective serotonin reuptake inhibitors produces a gradual subsensitivity of the 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors in the dorsal raphe nucleus (Jaffer and Wong, 1997; Haas *et al.*, 1998; Le Pont *et al.*, 1998; Li *et al.*, 1999), leading to an increased serotonin local extracellular concentration (Rattiner and Amick, 1993). Consequently, a decreased firing rate of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus occurs (Kobayashi *et al.*, 1993), simultaneous to a decreased release of serotonin towards neuronal terminals in the forebrain (Rattiner *et al.*, 1995). The electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus increases the firing rate of the LSN neurons, an effect facilitated by desipramine (Conteras *et al.*, 1993a). The increased availability of serotonin in the dorsal raphe nucleus (Kobayashi *et al.*, 1993) may produce a disinhibitory effect on structures which receive fibres from the dorsal raphe nucleus, such as the LSN (Conteras *et al.*, 1990, 1993). In fact, fluoxetine increases the fronto-cortical neurons firing rate, apparently through an effect mediated by serotonergic autoreceptors located in the dorsal raphe nucleus, since the selective destruction of the ascending serotonergic pathway blocks the increase in the firing rate of fronto-cortical neurons produced by fluoxetine (Cecchi *et al.*, 1995).

In conclusion, our data suggest that the increased neuronal firing rate of the LSN in animals treated with a low dose of fluoxetine during 21 days may be associated with an increase in motivation and in the first effort to escape from the stressful situation that the forced swim test represents.

## Acknowledgements

The authors wish to thank Warren Hand and Irene Marquina for revising the manuscript. During this investigation, H.R.T., H.M.M. and M.G.C. received fellowships from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología of CONACYT, Mexico (Res. 421888, 43667 and 19807), respectively.

## Address for correspondence

Carmen M. Contreras  
19013-00  
N. Capatzen 0000  
Acapulco  
Mexico  
E-mail: cmc@fuerce.uca.mx

WALLA DE URI

## References

- Borsini E, Moltz A (1981): Is the forced swimming test a suitable model for studying antidepressant activity? *Psychopharmacology* **65**: 143-160.
- Caci A, Barchiesi A, Borsini E (1993): Effect of thiothixene on the spontaneous electrical activity of the serotonergic neurons. *Eur J Pharmacol* **238**: 301-307.
- Conteratas C, M. Marvate M, I. Alcala-Herrera V, Munoz-Morales A (1993a): Dopamine enhances the excitatory actions of raphe nucleus stimulation in lateral septal neurons in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* **17**: 249-260.
- Conteratas C, M. Marvate M, I. Alcala-Herrera V (1993b): A new electrostimulative shock procedure can reliably evoke effects of raphe nucleus stimulation on the serotonergic treatment of the rat. *Neurosci Biobehav Rev* **17**: 309-323.
- Conteratas C, M. Alcala-Herrera V, Marvate M, I. (1989): Action of antidepressants on the septal lateral nucleus of the rat. *Physiol Behav* **26**: 293-298.
- Conteratas C, M. Marvate M, I. Alcala-Herrera V, Guzman-Soto M, A. (1991): Chronic dopaminergic treatment of the rat lateral septal nucleus in the rat. *Physiol Behav* **46**: 573-580.
- Conteratas C, M. Lata, M. Marvate M, M. Molina M, S. Sanchez M, A. Arribas-Basas G (1990): An early action of the lateral septal nucleus produces changes in the forced swim test depressive model. *Proc Natl Acad Sci Psychopharmacol* **19**: 1277-1284.
- Conteratas C, M. Marvate M, I. Alcala-Herrera V (1993): Dopaminergic effects on central serotonergic transmission. *Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry* **17**: 1121-1129.
- Conteratas C, M. Molina M, S. Sanchez M, Marvate M, I. (2000): Lateral septal nucleus: functional role in stress during post-stressor behavior in the rat. *Physiol Behav* **70**: 378-384.
- Cullinan ME, Herman JP, Battaglia DE, Akil H, Watson SJ (1993): Pattern and time course of immunocytochemically expressed c-fos in the rat brain following acute stress. *Neuroscience* **49**: 471-490.
- Dahlstrom A, Fuxe K (1964): Evidence for the existence of monoamines containing in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol Scand Suppl* **382**: 1-55.
- DeLack M, Beckel M, Lucki J (1995): Acute and chronic effects of forced swimming: differential effects produced by serotonin and norepinephrine antidepressant. *Psychopharmacology* **116**: 227-242.
- DeLack M, Lucki J (1996): Effects of antidepressant and nondesponding antidepressant on forced swim swimming test in the rat. *Stress* **19**: 233-243.
- DeLack M, Johnson S, Lucki J (1997): Acute and chronic antidepressant treatment in the rat forced swimming test model. *Psychopharmacology* **130**: 317.
- Dinan TE, Hennessy J, Neill J (1996): A molecular and cellular basis of depression. *Neurosci Biobehav Rev* **20**: 699-706.
- Dimmock J, Johnson K, Borsini E (1997): Topographical patterns of brain activity in response to acute stress: assessment by <sup>18</sup>F-deoxyglucose uptake and autoradiography. *Psychopharmacology* **130**: 224-234.
- Espino J, E. Miranda J, I. (1999): Neuroendocrine changes in depressive animals and antidepressant effects in rats and rabbits: the possible role of the serotonergic system. *Stress* **22**: 99-107.
- Fellenz RW, Wong D (1983): Imipramine in depression: reuptake. *Eur J Pharmacol* **26**: 213-216.
- Gizarte M, Borsini A, Winkler K, Borsini M, M. (1998): Septal nucleus: role of neurotransmitter receptors. *Physiol Behav* **65**: 1265-1270.
- Hanes M, S. Marvate M, I. Alcala-Herrera V (1998): Inhibition of norepinephrine and dopamine transporter distribution of serotonergic stimulation in septal nucleus. *Neurosci Biobehav Rev* **22**: 679-690.
- Lakaye R, E. Miranda J (1998): Serotonin. In: *Flavones* (ed. by Lakaye R, E. Miranda J). Academic Press, New York.
- Lakaye R, E. Miranda J (1998): Monoamine metabolism in the lateral septal nucleus: influence of neuropharmacologically applied  $\alpha$ -methyltryptophan. *Brain Res* **411**: 120-126.
- Lakaye R, M. Marvate M, J. Sanchez M, Galache J, P. (1986): Multiple actions of serotonin on lateral septal neurons in rat brain. *Eur J Pharmacol* **129**: 203-207.
- Lakaye R, Galache J, P. (1988): Actions of serotonin recorded extracellularly in rat dorsal lateral septal nucleus. *Synapse* **2**: 43-53.
- Knowlton B, L. Thompson E, I. (1989): Stimulation of the lateral septum is a more effective antidepressant stimulus than stimulation of the medial prefrontal cortex: classical conditioning of the eye-blink response. *Behav Neurosci* **101**: 296-298.
- Kelly JE, S. Luckman P, Dunnington S, J. Berman D, G. McAlister, B. Williams B, Rodrigues J (1991): Serotonin receptor heterogeneity and the role of potassium channels in neuronal excitability. *Mol Exp Med Biol* **297**: 147-160.
- Kelly JE, Allen A, R. Lucki J (1995): Regional differences in the effects of forced swimming, an extracellular levels of a hydroxytryptamine and electro-analytical data. *Brain Res* **682**: 149-156.
- Kelly JE, Lucki J (1992): Interaction between the forced swimming test and thiothixene treatment on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* **262**: 967-974.
- LeDoux JE, LeDoux S, Bonetti A, LeDoux M, Hammond M, Lanfear L (1990): Early desensitization of somatodendritic  $\beta$ -HTA receptors in rat treated with three weeks of pargyline. *Neurosci Lett* **103**: 141-144.
- Levy M, S. Van De Kar L (1996): Chronic thiothixene induces a gradual desensitization of  $\beta$ -HTA receptors: reductions in hypothalamic and midbrain cAMP and cAMP protein, and in neuroendocrine responses to a  $\beta$ -HTA agonist. *J Pharmacol Exp Ther* **279**: 1034-1042.
- Marvate M, I. Alcala-Herrera V, A. Barchiesi A, V. Conteratas C, M. (1992): Septal nucleus related to hippocampus increases their synaptic effect long-term dopaminergic actions. *Biol Estud Biol Med* **40**: 9-13.
- Molina M, Diaz M, E. L. Sanchez M, M. I. Conteratas C, M. (1996): Rapid serotonergic changes in serotonergic dopaminergic following an early septal lesion in the rat. *Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry* **20**: 1427-1434.
- Passinos G, Watson S (1982): The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York.
- Passinos J, D. P. F. Lucki M, L. (1993): Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* **366**: 530-532.
- Passinos J, P. Lucki J (1998): Antidepressant behavioral effects by chronic inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology* **136**: 190-197.
- Passinos J, A. Miranda J, E. (1994): Acute uptake inhibition increases 5-HT cellular serotonin in the rat forebrain. *J Pharmacol Exp Ther* **269**: 1419-1424.
- Passinos J, E. L. Miranda J, E. (1995): Systemic uptake inhibition decreases serotonergic and dopaminergic neurotransmitter activation. *Synapse* **20**: 225-233.
- Segal M (1943): Response of septal nucleus neurons to microstimulation of the adjacent raphe pallidus nucleus. *Ann NY Acad Sci* **47**: 4-11.
- Sheriff I, Yam B, Moudonovic S, A. (1996): Selective serotonin reuptake inhibitors in depressive patients. *Drug Vacine* **14**: 209-216.
- Thomas J (1988): Forebrain mechanisms in the relief of pain. The dorsal lateral septum. *Psychosomatics* **29**: 36-41.
- Thomas J, Vadini F, Struhalo C, E. (1991): Septal nuclei activity during basal conditioning: a regional comparison. *Brain Res* **541**: 393-397.
- Winkler K, Lucki J (1990): Antidepressant-like activity of a  $\beta$ -HTA agonist in a model with the forced swim test. *Psychopharmacology* **100**: 49-61.
- Yadini E, Thomas J (1981): Septal correlates of conditioned inhibition and extinction. *J Comp Neurol Psychol* **19**: 411-430.
- Yadini E, Thomas J, Goshiki H, L. Struhalo C, E. (1993): The role of the lateral septum in aversive-learned classical conditioning. *Physiol Behav* **47**: 1067-1083.

F

## APENDICE VI

Rodríguez-Landa JF, Contreras CM, Gutiérrez-García AG, Bernal-Morales B. Chronic, but not acute, clomipramine or fluoxetine treatment reduces firing rate of mesoaccumbens neurons of the rat. *Neuropsychobiology* 2003 48(3): 116-123.



Note: Underlining of figs. 2 and tabs. 1 will be deleted during pagination.

All rights reserved

No part of this publication may be translated into other languages, reproduced or utilized in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, microcopying, or by any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher.

© Copyright 2003 by S. Karger AG, Basel, Switzerland

Approx. printed pages

Running title

Actions of Antidepressants on  
Mesocumbens Neurons

Biological Psychiatry

Original Paper

Neuropsychobiology

DOI: 10.1159/0003XXXXX

0  
1  
3  
25  
6  
7

8 **Chronic, but Not Acute, Clomipramine or**  
9 **Fluoxetine Treatment Reduces the Spontaneous**  
10 **Firing Rate in the Mesoaccumbens Neurons of**  
11 **the Rat**

32 Juan Francisco Rodríguez-Landa Carlos M. Contreras  
33 Ana G. Gutiérrez-García Bladina Bernal-Morales

4 Laboratorios de Neurofarmacología, Instituto de Neurociología, Universidad Veracruzana, y  
5 Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México Xalapa,  
6 Veracruz, México

KARGER

Case postale 58  
CH-4002 Basel, Switzerland  
www.karger.com

2003 S. Karger AG, Basel

0302-282X/03/100-1545\$19.50/0

Access to this journal  
www.karger.com

Dr. Carlos M. Contreras  
P.O. Box 130, Xalapa 91000,  
Veracruz (México)  
Tel: +52 228 8 13 91 47  
Fax: +52 228 8 17 57 10 E-Mail: cmc@univz.mx

THE  
FALLA DE CARGEN

A

33

**Key Words**

064

Antidepressants · Clomipramine · Dopamine ·

065

Fluoxetine · Mesolimbic system · Nucleus accumbens ·

86

Ventral tegmental area

38

**Abstract**

39

40 In the present study, single-unit extracellular recording  
 41 was used in male Wistar rats to compare the effects of a  
 42 single dose (acute treatment) and a 21-day regimen  
 43 (long-term treatment) with clomipramine (2.5 mg/kg)  
 44 and fluoxetine (1.0 mg/kg) on the spontaneous firing rate  
 45 of nucleus accumbens (NAcc) neurons connected with  
 46 the ventral tegmental area (VTA). A single injection of  
 47 clomipramine or fluoxetine did not modify the firing rate  
 48 of NAcc neurons as compared with the control group,  
 49 whereas a 21-day regimen reduced the firing rate in com-  
 50 parison with a 21-day saline-treated group, specifically  
 51 for NAcc neurons that were inhibited by VTA electrical  
 52 stimulation. These results demonstrate that chronic, but  
 53 not acute, clomipramine or fluoxetine treatment reduces  
 54 the firing rate of mesoaccumbens neurons, probably by  
 55 dopaminergic activation, supporting the hypothesis that  
 56 the NAcc is involved in the actions of at least these anti-  
 57 depressants. However, additional experiments need to  
 58 be performed in order to delineate the mechanisms by  
 59 which chronic clomipramine and fluoxetine treatment  
 60 reduces the firing rate of NAcc neurons in the rat.

Copyright © 2005, Karger AG, Basel

34

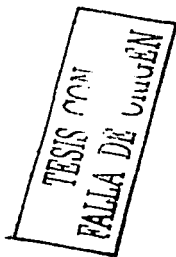
**Introduction**

66

67 Long-term effects of antidepressant treatments have  
 68 revealed their influence not only on the serotonergic and  
 69 noradrenergic systems but also on the dopaminergic me-  
 70 solimbic system [1, 2]. Herein, the nucleus accumbens  
 71 (NAcc) is a mesolimbic structure rich in dopaminergic  
 72 terminals coming from the ventral tegmental area (VTA),  
 73 which has been associated with motivation, reinforce-  
 74 ment, addiction to psychoactive drugs [3–5] and with  
 75 some effects of antidepressants [6, 7].

76

77 The involvement of the dopamine system in the action  
 78 of antidepressants has been suggested in several reports  
 79 [8, 9]. Acute clomipramine (10 mg/kg) and imipramine  
 80 (10 mg/kg) produce a significant increase in extracellular  
 81 dopamine in the striatum, whereas acute fluoxetine  
 82 (10 mg/kg) significantly decreases extracellular dopamine  
 83 in both the NAcc and the striatum of the rat [7]. On the  
 84 other hand, acute (2.5, 5.0 and 10 mg/kg i.p.) or chronic  
 85 (5 mg/kg) administration of fluoxetine failed to elevate  
 86 extracellular concentrations of dopamine or its metabo-  
 87 lites in the NAcc or the caudate-putamen (CPu). Besides



B

the chronic administration of tricyclic antidepressants, serotonin reuptake inhibitors or even electroconvulsive shock potentiates a variety of behavioral responses produced by dopaminergic agents [12-15]. Thus, the locomotor response of the animals to  $D_2$  antagonists, such as LY 171555 and quimpirole [14, 15], increases after chronic (but not acute) administration of fluoxetine, desipramine and mianserine or the repeated application of electroconvulsive shocks. The effects produced by the administration of  $D_2$  antagonists on behavior occur both after systemic [16, 17] or in situ administration into the NAcc [18], suggesting an increased sensitivity of  $D_2$  receptors in the mesolimbic system after long-term antidepressant treatment [14] as occurs also with imipramine, mianserine, amitriptyline and fluoxetine administration [19]. In addition, some studies of binding have not demonstrated any modification in the affinity of  $D_2$  receptors after acute treatments [20], however, long-term treatment with antidepressants significantly increases the affinity of  $D_2$  receptors in mesolimbic system structures [21]. In consistency, chronic treatment with imipramine and citalopram increases mRNA activity, which codifies for the  $D_2$  receptors in the striatum and in the NAcc of the rat [22-24]. The above data suggest that the NAcc could be a common site for the actions of antidepressants, which manifest their effects only after long-term treatment in accordance with clinical observations [25].

Consequently, the NAcc has been considered as an integrative site for motivated aspects of behaviour [26, 27] and for the actions of antidepressant drugs [28]. However, possible changes in the firing rate of NAcc neurons under acute or long-term treatment with 5-HT reuptake-inhibiting antidepressants remain to be explored; therefore, in the present study, the effect of administering a single dose or a 21-day regimen of clomipramine or fluoxetine on the firing rate of NAcc neurons associated with the VTA was determined by means of single-unit extracellular recording in the rat.

## Material and Methods

### Animals

We utilized 88 male Wistar rats, aged 3 months and weighing between 300 and 350 g at the beginning of treatment. The rats were kept in housing facilities in animals' box with a light/dark cycle of 12 h, each flight on a 2 × 60 cm Y and free access to water and food. The experiments were carried out in accordance with the National Institute of Health's Guide for Care and Use of Laboratory Animals.

### Experimental groups and treatments

The animals were randomly assigned to each of 8 experimental groups. One group of animals (CM;  $n = 10$ ) received a single dose of clomipramine (2.5 mg/kg, i.p.) in a volume equivalent to 0.2 ml/100 g. A second group (CM;  $n = 12$ ) was injected once a day during 21 days with clomipramine (0.5 mg/kg, i.p.). Two control

PALLA DE URGEN

C



in a single dose (S<sub>1</sub>-Ac, n = 10) and during a 21-day period (S<sub>2</sub>-Ch, n = 12) respectively. A fifth group (I<sub>1</sub>-Ac, n = 10) of rats received a single dose (1.0 mg/kg) of desvenlafaxine intracerephally, in a volume equivalent to 0.5 ml/300 µ, and another group received the same dose daily during 21 days (I<sub>2</sub>-Ch, n = 12). The control groups (S<sub>1</sub>-Ac, n = 10 and S<sub>2</sub>-Ch, n = 12 acute and long-term) received saline solution (0.5 ml/300 µ) by the same route and in the same periods as the flavoxetine groups.

#### Drugs

Clomipramine hydrochloride (Sigma Chemicals Co., St. Louis, Mo., USA) and desvenlafaxine hydrochloride (Prozac, Eli-Lilly & Compañía de México, SA de CV, Mexico D.F., Mexico) were dissolved in saline solution and injected intraperitoneally and intracerephally, respectively.

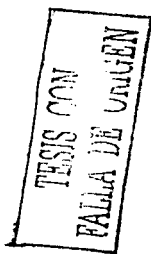
#### Stereotaxic Surgery

One hour after the last injection (saline or antidepressant), the animals received an intraperitoneal dose of 1.0 g/kg i.p. of urethane (ethylurethane, Sigma Chemicals), followed by one tenth of this dose every 30 min to sustain deep anesthesia. The head was fixed in a stereotaxic frame (Nieuwenhuis, Wood Dale, Ill., USA) with the incisive bar set at -3.0 mm. A midline incision uncovered the skull where a small trepanation was made at the appropriate stereotaxic coordinates [29] corresponding to the NAcc (AP = -1.5, L = -1.0), for the purpose of descending a glass micropipette to a depth of 5.5–7.5 mm below the surface of the cerebral cortex to measure the spontaneous activity of NAcc neurons by means of single-unit extracellular recording. Another trepanation was carried out at the coordinates corresponding to the VTA (AP = -5.5, L = -0.9, at a depth of -7.7 mm), where a stainless-steel bipolar electrode (100/112, 1 mm separation of tips, 100 µm diameter) was descended and fixed to the skull with dental acrylic (Duc-Lone<sup>®</sup>).

#### Single Unit Extracellular Recording

By means of a hydraulic micromanipulator (Grant Wells Inc., So. Gate, Calif., USA), a glass micropipette (4–8 mfd) filled with a solution of NaCl 1 M was descended toward the NAcc. The neuronal activity detected by the micropipette was sent to a Grass 7P5111 amplifier (Quincy, Mass., USA) with low and high filters set at 300 Hz and 3 kHz, respectively, connected in parallel to an audio amplifier (Radson, 1000) and to an oscilloscope (Tektronix 5111 A, Beaverton, Oreg., USA) which received the filtered signal free from background noise through a window discriminator.

A criterion of 3.5 ms without sudden changes in firing rate and in spike amplitude was considered as indicative of stabilization in the spontaneous activity. Each spike recorded by the micropipette was sent to an amplifier (Grass 8A) and a Grass 8A stimulator which delivered corresponding square pulses of constant amplitude and duration (100 µs, 4 V) to the recording part of a PC, supplied with software designed for the firing rate analysis. After 9 min of on-line recording, the frequency histogram, the mean  $\pm$  standard error for the firing rate every 10 s, the mean interval of firing rate and the variation coefficient (the deviation standard divided by the mean neuronal firing) were obtained, 5 min later a peristimulus histogram was obtained (1000 spikes) by electrical stimulation of the VTA, and lastly, after another 5 min, the spontaneous activity of NAcc neurons was again collected during 9 min.



#### *Electrical Stimulation of the VTA*

The VTA was electrically stimulated by means of a Grass S48 Stimulator which delivered squared pulses (0.3 Hz, 0.1 ms, 0.1 mA). Simultaneously, the activity of the NAcc neurons was recorded and a peristimulus histogram determined the response of the NAcc to VTA stimulation, in order to obtain an indication of the kind of connection between the structures, i.e. reduced or increased firing rate and non-respondent neurons.

#### *Histological Analysis*

At the end of the experiment, the last recorded and stimulated sites were marked by direct current (3 min each polarity) through the electrodes. Thereafter, the rat was perfused intracardially with 0.9% saline solution (50 ml) followed by 20% formaldehyde (50 ml). The brain was then removed, and frozen sections were cut (40  $\mu$ m) by means of a cryostat microtome (Leica Jung, Nussloch, Germany). The sections thus collected were dyed by the Nissl technique and the path followed by the recording microelectrode and the stimulation electrode was reconstructed with the aid of stereotaxic coordinates. Only the neuronal recordings from those animals in which we identified the marks left by the microelectrode and the stimulation electrode in the NAcc and the VTA, respectively, were included in the data analysis.

#### *Statistical Analysis*

The Mann-Whitney U test was used to analyze the neuronal firing rate, the first-order interval and the variation coefficient of the NAcc neurons, since the data failed to follow a normal distribution. Only differences attaining  $p \leq 0.05$  were considered statistically significant. The results are expressed as the mean  $\pm$  standard error.

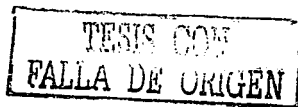
## 31 Results

From the histological analysis of a total amount of 309 recordings, 296 single-unit extracellular recordings were obtained from both the shell and core portions of the NAcc, and no significant differences between the firing rates of the neurons in each region were found, therefore, we report the data from all neurons registered without distinguishing the NAcc region.

In either case, i.e. saline or antidepressant treatment, the spontaneous firing rate of NAcc neurons was not modified after VTA stimulation for obtaining the peristimulus histogram. Hence, only the results obtained in the first 9 min of spontaneous activity before VTA electrical stimulation are shown:

#### *Response of NAcc Neurons to Electrical Stimulation of the VTA*

A percentage analysis of the type of response from NAcc neurons to the electrical stimulation of the VTA, identified by the peristimulus histograms (Fig. 1), showed that most of the NAcc neurons responded to VTA stimulation with a short period of abolished activity (VTA-diminished-firing neurons,  $n = 141$ , 47.6%) or did not respond to stimulation (VTA-nonrespondent neurons,  $n = 126$ , 42.6%). The small amount of neurons responding with an increased firing rate ( $n = 29$ , 9.8%) limited their



F

statistical analysis; therefore, only the results of the firing rate from reduced and nonrespondent neurons to VTA electrical stimulation are reported.

Those neurons with diminished firing rate during VTA electrical stimulation showed changes after long-term clomipramine or fluoxetine treatment. The abolished activity period was significantly longer ( $p < 0.05$ ) in comparison with the saline groups or with those receiving acute clomipramine or fluoxetine treatments (table 1).

#### Acute and Chronic Clomipramine Treatment

From our experiment with clomipramine and saline solution, a total amount of 145 single-unit extracellular recordings was obtained from the NAc at a mean depth of 6.4 mm ( $\pm 0.04$ ) below the surface of the brain cortex and with a spike amplitude of 85.7 mV ( $\pm 1.0$ ). From these recordings, 72 corresponded to acute treatments ( $S_1$ -Ac,  $n = 37$ , and CMI-Ac,  $n = 35$ ) and 73 to chronic treatments ( $S_1$ -Ch,  $n = 37$ , and CMI-Ch,  $n = 36$ ).

The comparison of data obtained after a single dose of clomipramine or saline solution showed no significant differences in the spontaneous firing rate of the NAc neurons: neither in the group of VTA-diminished-firing neurons ( $S_1$ -Ac  $20.4 \pm 2.7$  and CMI-Ac  $16.9 \pm 3.5$  spikes/10 s) nor in that of nonrespondent neurons ( $S_1$ -Ac  $15.7 \pm 2.3$  and CMI-Ac  $15.8 \pm 2.1$  spikes/10 s).

In contrast, the 21-day regimen with clomipramine (CMI-Ch group) reduced the firing rate in those VTA-diminished-firing neurons ( $p < 0.05$ , Mann-Whitney U test) compared with the  $S_1$ -Ch group ( $9.7 \pm 1.3$  and  $23.4 \pm 4.3$  spikes/10 s, respectively, fig. 2). This effect was not observed ( $p = 0.8$ , Mann-Whitney U test, NS) in the group of nonrespondent neurons ( $S_1$ -Ch  $14.8 \pm 2.9$  and CMI-Ch  $11.4 \pm 3.1$  spikes/10 s).

The analysis of the variation coefficient failed to reveal any significant differences among the various experimental groups. However, the mean first-order interval of the VTA-diminished-firing neurons was significantly increased ( $p < 0.05$ ) in the CMI-Ch group ( $561.4 \pm 35.5$  ms) in comparison with the  $S_1$ -Ch group ( $400.6 \pm 45.9$  ms).

#### Acute and Chronic Fluoxetine Treatment

In this part of the study, we obtained a total of 151 single-unit extracellular recordings from the NAc at a mean depth of 6.43 mm ( $\pm 0.05$ ) below the surface of the cortex and with a spike amplitude of 86.2 mV ( $\pm 0.6$ ). From these recordings, 75 corresponded to the acute treatments ( $S_1$ -Ac,  $n = 37$ ; F1N-Ac,  $n = 38$ ) and 76 to the chronic treatments ( $S_1$ -Ch,  $n = 39$ ; F1N-Ch,  $n = 37$ ).

The comparison of acute fluoxetine and saline treatments failed to show any significant difference between treatments, neither for VTA-diminished-firing neurons ( $S_1$ -Ac  $21.2 \pm 2.9$  and F1N-Ac  $20.0 \pm 2.6$  spikes/10 s) nor for nonrespondent neurons ( $S_1$ -Ac  $16.7 \pm 2.5$  and F1N-Ac  $17.4 \pm 2.3$  spikes/10 s).

TESIS CON  
 FALLA DE VOTACION

6

The effect of the chronic administration of fluoxetine or saline solution on the firing rate of NAac neurons is illustrated in figure 3. The firing rate of the VTA-diminished-firing rate neurons in the F1 N-Ch group was significantly lower ( $9.5 \pm 2.2$  spikes/10 s) in comparison with the S<sub>2</sub>-Ch group ( $24.1 \pm 4.8$  spikes/10 s); this effect was not observed in the nonrespondent neurons (S<sub>2</sub>-Ch  $13.5 \pm 2.1$  and F1 N-Ch  $14.6 \pm 2.8$  spikes/10 s).

Similarly to what was observed with clomipramine, the variation coefficient in rats submitted to fluoxetine failed to illustrate any significant difference. The mean interval of firing from the VTA-diminished-firing neurons in the F1 N-Ch group ( $557.3 \pm 48.4$  ms) was significantly longer ( $p < 0.05$ ) in comparison with the S<sub>2</sub>-Ch group ( $352.7 \pm 13.9$  ms). Lastly, the changes in firing rate after long-term clomipramine or fluoxetine treatment proved to be similar for both treatments.

## 10 Discussion

The aim of the present study consisted in comparing the effect of a single dose and a 21-day regimen of clomipramine or fluoxetine on the firing rate of the NAac neurons associated with the VTA in Wistar rats. The main findings can be summarized as follows: (a) a single dose of clomipramine (2.5 mg/kg) or fluoxetine (1.0 mg/kg) did not produce significant changes in the firing rate of NAac neurons; and (b) a 21-day regimen with clomipramine (2.5 mg/kg) or with fluoxetine (1.0 mg/kg) significantly and similarly reduced the firing rate of NAac neurons, exclusively in those receiving an inhibitory input from the VTA.

We explored the effect of clomipramine, a 5-HT and noradrenaline reuptake inhibitor, and of fluoxetine, a 5-HT selective reuptake inhibitor, on the spontaneous neuronal firing rate of the NAac, a mesolimbic structure rich in dopaminergic terminals coming from the VTA [30], given that there are observations leading us to suppose the participation of the dopaminergic system in the actions of these antidepressants. There are no reports illustrating a direct effect of clomipramine and fluoxetine on dopamine receptors or dopamine uptake sites, except for the relatively weak affinity of clomipramine for the dopamine D<sub>2</sub> subtype receptor [31, 32]. In addition, fluoxetine does not inhibit [<sup>3</sup>H]dopamine uptake in preparations from the striatum and the superior colliculus [33]. These data suggest that the mechanism by which clomipramine and, possibly, fluoxetine produce activation of the dopamine pathway might not involve a direct effect on dopamine neurons but possibly an effect mediated by 5-HT neurons, since both antidepressants are mainly serotonin reuptake inhibitors [32, 34]. In this sense, some antidepressants influence dopaminergic activity through mediation by the 5-HT receptors located in some brain structures such as

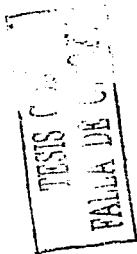
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

H

5 the dorsal raphe nucleus [35]. In fact, 5-HT directly  
6 applied into the VTA facilitates the liberation of dopa-  
7 mine toward the NAcc [36], and ritanserin (a 5-HT<sub>2</sub>  
8 receptor antagonist) increases the amount of extracellular  
9 dopamine in the NAcc [37]. In addition, the electrical  
10 stimulation of the dorsal raphe nucleus increases extracel-  
11 lular dopamine availability in the NAcc, indicating that  
12 an enhancement of central 5-HT transmission induced by  
13 stimulation of the dorsal raphe nucleus exerts a facilitatory  
14 action on the mesoaccumbens dopamine pathway [38,  
15 39]. Therefore, antidepressant drugs may induce an en-  
16 hanced dopaminergic activity secondary to an increased  
17 availability of 5-HT in the dorsal raphe nucleus or any  
18 other cerebral structures mediated by 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub>  
19 receptors. For instance, the direct application of 5-HT  
20 into the NAcc by a dialysis probe increases accumbal  
21 extracellular dopamine, an effect antagonized by pindolol  
22 which is a relatively nonspecific 5-HT<sub>1A/D</sub> receptor  
23 antagonist [40]. To summarize, clomipramine and fluoxe-  
24 tine act primarily on the receptors for which they possess  
25 the greatest affinity (noradrenaline and 5-HT receptor)  
26 and later activate the mesoaccumbens dopaminergic sys-  
27 tem in the long term, as reported by other authors [2, 25].  
28 The foregoing illustrates that antidepressants differentially  
29 activate both systems of neuro-transmission [1, 2].

30 Long-term, but not acute, treatment with diverse anti-  
31 depressants desensitizes the dopaminergic autoreceptors,  
32 thus favoring a greater availability of dopamine in the syn-  
33 aptic cleft [41], as well as the upregulation of D<sub>2</sub> postsyn-  
34 aptic receptors [14, 15]. In the present study, long-term  
35 treatment with clomipramine or fluoxetine reduced the  
36 spontaneous firing rate of the VTA-diminished-firing  
37 NAcc neurons and lengthened the inhibition period of fir-  
38 ming which followed the VTA electrical stimulation (peri-  
39 stimulus histogram), thus suggesting that dopaminergic  
40 neurons were involved. Dopamine exerts inhibitory ef-  
41 fects on the NAcc and VTA firing rates, among other  
42 structures similarly affected, such as the neostriatum, the  
43 cingulum and the prefrontal cortex [42, 45]. Given that  
44 treatment with antidepressants activates dopaminergic  
45 transmission [1] and that dopamine exerts mainly inhibi-  
46 tory effects [43], long-term treatment with clomipramine  
47 or fluoxetine probably facilitate dopaminergic activity in  
48 the mesoaccumbens pathway, evidenced by a reduction in  
49 the firing rate of NAcc neurons (present study).

50 Clomipramine inhibits both 5-HT and noradrenaline  
51 reuptake. In this sense, the administration of tricyclic  
52 antidepressants desensitizes or reduces the density of the  
53  $\alpha$ -adrenergic receptors [46, 47]. When these receptors are  
54 activated by the  $\beta$ -adrenergic receptor agonist isoproterenol, the  
55 liberation of dopamine toward the NAcc decreases,  
56 whereas the chronic treatment with desipramine blocks  
57 the isoproterenol effect, that is dopamine liberation to-  
58 ward the NAcc is encouraged, seemingly because of the  
59  $\alpha$ -adrenergic receptor desensitization [48]. It is possible



I

9 that the long-term actions of clomipramine and fluoxetine  
10 on serotonergic or noradrenergic receptors activate the  
11 mesolimbic dopamine system, thereby exerting an inhibitory  
12 effect on the single-unit extracellular activity of the  
13 NAcc neurons, which may be due to the enhancement of  
14 dopamine availability in the mesoaccumbens pathway.

15 The administration of a relatively high subacute dose  
16 of fluoxetine (10–20 mg/kg) reduces immobility in the  
17 forced swim test [49]. Nevertheless, long-term low-dose  
18 (1.0–5.0 mg/kg) regimens of fluoxetine [50, 51] or clomipramine  
19 (1.5 mg/kg) [52] produce antidepressant effects  
20 in the forced swim test and increase the firing rate of lateral  
21 septal neurons [51, 53, 54]. Acute and chronic fluoxetine  
22 (5.0, 10 or 20 mg/kg per day) decreases the firing rate  
23 of 5-HT neurons in the dorsal raphe nucleus and after 3-  
24 day or long-term treatment produces desensitization of the  
25 5-HT<sub>1C</sub> receptor [55] independently of the dose [56].  
26 These results are consistent with the clinical finding that  
27 merely changing the dose of fluoxetine does not bring  
28 about a faster onset of the therapeutic effect [57]. It is  
29 important to point out that these data derived from the  
30 use of low-dose treatment with antidepressant drugs are  
31 detected only after chronic treatment, but not after acute  
32 administration. In our study, a low dose of clomipramine  
33 (2.5 mg/kg) or fluoxetine (1.0 mg/kg) during 21 days was  
34 effective in reducing the firing rate of those NAcc neurons  
35 receiving inhibitory influences from the VTA, probably  
36 by primary activation of the 5-HT system and parallel  
37 activation of the mesoaccumbens dopamine system. It  
38 seems, therefore, that the reduced firing rate of NAcc neurons  
39 produced by low doses of antidepressants is observed  
40 only after a treatment lasting several weeks, which may  
41 reflect some adaptive changes at the neuronal receptor  
42 level that require some time to become evident [25, 54].

43 Notwithstanding the attribution of different functions  
44 to the core and shell regions of the NAcc [58, 59], in our  
45 study the effect of the treatment with clomipramine or  
46 fluoxetine was the same in both regions, in which the long-  
47 term treatment with antidepressants significantly reduced  
48 the firing rate of NAcc neurons with VTA diminished firing.  
49 It is also important to mention that in both the core  
50 and shell regions there are D<sub>1</sub>-D<sub>2</sub> dopaminergic receptors  
51 [24]. In this sense, the final effect on the behavioral  
52 expression will depend on the connections they have with  
53 other cerebral structures, i.e., the core region is associated  
54 with the emission of motor patterns, whereas the shell  
55 region regulates the motivational component [60, 61],  
56 finally providing a motor response associated with some  
57 kind of motivation related to the antidepressant treatment  
58

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

In conclusion, long-term low-dose (but not acute) treatment with clomipramine or fluoxetine reduces the firing rate of the NAcc neurons receiving an inhibitory input from the VTA, probably by indirect processes involving the enhanced dopamine activity in the mesoaccumbens pathway. However, additional experiments need to be performed in order to delineate the mechanisms by which chronic clomipramine and fluoxetine treatment reduces the firing rate of NAcc neurons in the rat.

### Acknowledgments

The authors wish to thank Irene Marquina and Warren Haid for revising the manuscript. During this investigation, J.I.R.L., A.G.G. and B.H.M. received fellowships from the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CONACyT, Mexico). Rep. 124888, 150023 and 124657, respectively, and partial fellowship from the Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGEP-USAM).

### References

- Wulfer P. The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 1997;17:7-14.
- Boilzonne N, Esposito F. Involvement of serotonin and dopamine in the mechanism of action of novel antidepressant drugs. A review. *J. Clin. Psychopharmacol.* 1998;18:447-454.
- Di Ciano P. Psychobiology of the role of dopamine in drug abuse and addiction. *Neurosci. Res. Commun.* 1997;13:143-145.
- Wiseport S, Nakano G, Costa M, Ebner FF. Dopamine correlates of motor skilled behavior: Importance of drug. *J. Neurosci.* 1995;15:5188-5198.
- Griss PA, Krasnick M, Himm MA, Michael D, Walker JD, Wightman RM. Dissociation of dopamine release in the NAcc from intracranial self-stimulation. *Nature* 1999;399:67-69.
- Cesce E, Santini R, Di Ciano P. Dopamine mechanisms in the NAcc are selectively involved in the effect of clomipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology* 1997;36:409-427.
- Izumiwa J, Mittle H. Effect of antidepressants on striatal and accumbens extracellular dopamine levels. *Eur. J. Pharmacol.* 1993;251:253-260.
- De Meirits GM, Devoto P, Gessa GL, Meli D, Pontella A, Saito P, Serra G. Lofapramine, a central dopaminergic transmission blocker, levels increased in the limbic system of rats chronically exposed to antidepressants. *Eur. J. Pharmacol.* 1990;180:31-35.
- Savone C, Arzeneto ML, De Santis P, Manes D, Lanza R. Long-term effects of imipramine on striatal dopamine autoreceptors and involvement of both noradrenergic and serotonergic systems. *Gen. Pharmacol.* 1992;23:401-403.
- Itowan AS, Gershon S. Dopamine and depression. *J. Neural Transmission* 1993;96:75-81.
- Clark RN, Ashby CR Jr, Downs SR, Rothman RW, Stricker RL. Effect of acute chronic fluoxetine on corticocortical dopamine levels in the rat under various acute stressor conditions. *Synapse* 1997;23:17-23.
- Sprack C, Unger C. Behavioral and cellular supersensitization of postsynaptic dopamine receptors in the mesolimbic system after chronic administration of antidepressants. *Eur. J. Pharmacol.* 1984;74:195-200.
- Serra G, Collo M, D'Agosta P, Pini E, Gessa GL. Behavioral supersensitization of dopamine receptors induced by chronic treatment with imipramine. *Synapse* 1997;25:180-187.
- Serra G, Collo M, D'Agosta P, De Mito GM, Gessa GL. Possible role of dopamine receptor in the behavioral supersensitization to dopamine agonists induced by chronic treatment with antidepressants. *Brain Res.* 1997;827:234-243.
- Collo M, Porqu AS, Devoto P, Serra G. Behavioral sensitization of mesolimbic dopamine D<sub>2</sub> receptors in chronic fluoxetine-treated rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1997;325:59-67.
- Wulfer P, Montgomerie A. Behavioral changes during withdrawal from the tricyclic antidepressant desmethylclomipramine (DM). Interactions with amphetamine. *Psychopharmacology* 1991;75:34-50.
- Ma J, Wiedrowski K. Repeated treatment with imipramine of amphetamine increases the motor response of rats to amphetamine in the NAcc. *Eur. J. Pharmacol.* 1997;302:361-364.
- Ma J, Wiedrowski K, Kirmas V. Desipramine repeatedly enhances behavioral effect of dopamine and D<sub>2</sub> amphetamine in the NAcc. *Eur. J. Pharmacol.* 1997;140:173-185.
- Ma J, Dzedzicka-Wasyliwska M, Borys J, Saito P, Serra G. Antidepressant drugs repeatedly change the binding of the dopamine D<sub>2</sub> agonist [<sup>3</sup>H]-S4471 to D<sub>2</sub> receptors in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 1996;304:29-36.
- De Meirits GM, Devoto P, Gessa GL, Meli D, Pontella A, Serra G, Izumiwa J. Chronic imipramine reduces [<sup>3</sup>H]-S4471 binding and D<sub>2</sub> supersensitization evoked by the limbic system. *Eur. J. Pharmacol.* 1995;299:303-307.
- Klimek A, Ma J. Repeated administration of antidepressants changes agonist affinity of mesolimbic D<sub>2</sub> receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 1999;31:555-558.
- Dzedzicka-Wasyliwska M, Borys J, Kirmas V, Ma J. Repeated administration of antidepressant drugs affects the binding of [<sup>3</sup>H]-S4471 to D<sub>2</sub> and D<sub>1</sub> dopamine receptors in the brain. *Neurosci. Biophys.* 1996;20(2):71-74.
- Amosori K, Smith SF, Zetterstrom LH, Frankowski M, Sharp J. Effect of antidepressants on dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptor expression and dopamine release in the NAcc. *Brain Res. Psychopharmacol.* 1993;106:1-11.

TIPSIC  
 FALLS  
 1997

K

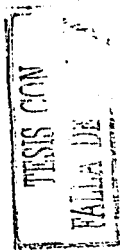
24. Rado R, Dinszacka Wasowska M. Effects of antidepressant drugs on the dopamine D<sub>1</sub> receptors in the rat brain: differentiated agonist and antagonist binding. An autoradiographic analysis. *Neurosci Biomedicine Arch Pharmacol* 1997;59:174-180.
25. Dumortier RS, Heninger GR, Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry* 1997;54:907-916.
26. Mogenson GJ, Yang E, Yum CY. Influence of dopamine on limbic systems in the nucleus accumbens. *Ann NY Acad Sci* 1982;377:86-100.
27. Salomon JD, Cousins MS, McCulloch LD, Carlson DL, Berkowitz RL. NAcC dopamine release increases during instrumental lever pressing for food but not free food consumption. *J Pharmacol Biochem Behav* 1982;49:28-31.
28. Wilms P, Mas A, Rapp M. Chronic mild stress-induced anhedonia: A rodent animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 1992;16:578-584.
29. Paterson G, Watson G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinate. New York: Academic Press, 1987.
30. Einfeldt G, Bjorklund A. Dopamine and monoaminergic cell bodies in limbic systems. Their anatomy in the rat brain. In: Linnarsson PC (ed). *Chemical Neuroanatomy*. New York, Raven Press, 1985, pp 229-245.
31. Richelson E, Nelson A. Antagonism by antidepressants of neuronal transmitter receptors of mammalian brain. *Pharmacol Ther* 1984;7:30-94-102.
32. Richelson E, Plening M. Blockade by antidepressants and related compounds of biogenic amine uptake into rat brain vesiclesomes. Microantiprepriants selectively block norepinephrine uptake. *Eur J Pharmacol* 1984;104:277-286.
33. Weller RF, Ross S, Jenner P, Marsden CD. In vitro characterization of dopamine receptor in the superior colliculus of the rat. *Neuropharmacology* 1987;26:347-354.
34. Fuller RW, Wong DF. Inhibition of serotonin reuptake. *Eur J Pharmacol* 1977;47:154-158.
35. Esposto E. An inhibition of the dopamine in the dopamine neurotransmitter systems. *Trends Pharmacol Sci* 1989;10:39-40.
36. Guo XM, Mitrani WJ. Serotonin reuptake inhibitors in the ventral tegmental area increases accumbens dopamine release. *Brain Res Bull* 1989;22:841-845.
37. Amalasekare H, Sankhe G, Muzina M, Herzig P, Mello JM, Svensson TH. Riluzole potentiates the stimulatory effects of lisdopamine on neuronal activity and dopamine release selectively in the mesolimbic dopaminergic system. *Neurosci Biomedicine Arch Pharmacol* 1998;73:424-430.
38. De Dreuven P, Smitas J, Spampinato U. Opposite effects of in vivo dopamine release in the rat nucleus accumbens and striatum that follows electrical stimulation of dorsal raphe nucleus. Role of 5-HT<sub>1</sub> receptors. *J Neurosci* 1998;18:720-728.
39. De Dreuven P, Spampinato U. Role of serotonin2A and serotonin2C receptors subtypes in the control of accumbal and striatal dopamine release elicited in vivo by dorsal raphe nucleus electrical stimulation. *J Neurochem* 1999;74:1033-1044.
40. Parsons LH, Jutacz JB. Persistent serotonin increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by in vivo microdialysis. *Brain Res* 1992;566:195-200.
41. Serra G, Arpethas A, Kriemel V, Fiala F, Gessa GL. Chronic treatment with antidepressant prevents the inhibitory effects of small doses of apomorphine on synthesis and motor activity. *Eur J Neurosci* 1999;25:435-450.
42. Akana SS, Sasa M, Lakso S. Microinjections studies of the dopaminergic inhibition from the VTA to the NAc nucleus. *J Pharmacol Exp Ther* 1984;229:859-864.
43. Yum CY, Mogenson GJ. Response of NAc neurons to intrapallid stimulation and its modification by dopamine. *Brain Res* 1982;239:401-415.
44. Yang CR, Mogenson GJ. Electrophysiological responses of neurons in the NAc to intrapallidal stimulation and the attenuation of the excitatory responses by the administration of apomorphine. *Brain Res* 1984;314:83-84.
45. Heugrard M, Leriche A, Descaux A. Comparative analysis of the neuropharmacologically dopamine in different regions of the rat brain, with special reference to the cingulate cortex. *Synapse* 1991;9:27-34.
46. Garcia Sevilla JA, Prado D, Gillet J, Gimnez J, Ares P. Alpha2 adrenoceptor-mediated inhibition of platelet adenylate cyclase and modulation of depression in mouse depression. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:127-132.
47. Sacchetti G, Bernini M, Garbi M, Pavia S, Pirina L, Mennini T, Samanin R. Chronic treatment with desipramine facilitates its effect on extracellular serotonin in the rat hippocampus. Studies on the role of presynaptic and postsynaptic receptors. *Neurosci Biomedicine Arch Pharmacol* 2001;73:166-172.
48. Nairn A, Russell VA, Johnson D. Effect of chronic desipramine treatment on adrenergic modulation of 5-HT<sub>1B</sub> dopamine receptors in rat NAc slices. *Brain Res* 1987;411:248-249.
49. Deike MJ, Kocarek M, Lando J. A novel behavior in the rat: forced swimming test differentially produced by serotonergic and norepinephrine antidepressants. *Psychopharmacology* 1995;121:69-77.
50. Deike MJ, Johnson J, Lando J. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat: forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol* 1997;15:107-122.
51. Contreras CM, Rodriguez-Landa J, Ochoa R, Garcia AJ, Berni-Esteban H. The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *J Psychopharmacol* 2001;25:231-239.
52. Melino-Hernandez M, Lellay-Montoya SP. Antidepressant-like actions of paroxetine and paroxetine in Wistar rats tested by swim. *Psychopharmacology* 2000;151:27-32.
53. Contreras CM, Alcalá-Herrera A, Melino M. Action of antidepressants on the lateral septal nucleus of the rat. *Physiol Behav* 1998;71:793-798.

TESIS COM  
PAGA DE VAUGHN

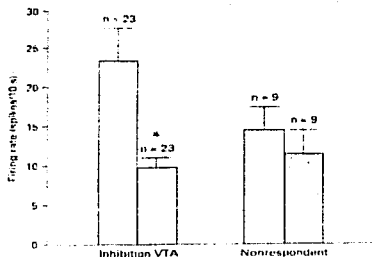
2



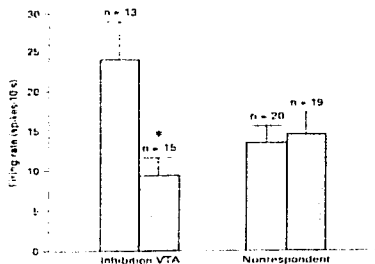
- 54 Contreras CM, Marván ME, Alcalá-Herrera V, Guzmán-Saenz MA. Chronic dopaminergic increases firing rate in the lateral septal nucleus of the rat. *Physiol Behav* 1990;48:551-554.
- 55 Le Poul E, Lantieri N, Doucet J, Larsson A, Hanton M, Lantieri J. Early desensitization of somatodendritic 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors in rats treated with fluoxetine or paroxetine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995; 352:141-148.
- 56 Uezuhira H, Rasmussen K. Effects of acute and chronic administration of fluoxetine on the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2003;367:266-275.
- 57 Beasley CM, Bosomworth JC, Weimcke JB. Fluoxetine: Relationship among dose, response, adverse events, and plasma concentrations in the treatment of depression. *Psychopharmacol Bull* 1990;26:18-24.
- 58 Heimer L, Zahm DS, Churchill L, Kalivas PW, Whittleman C. Necessity of the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience* 1991;41:89-125.
- 59 Deutch SA, Cameron DS. Pharmacological characterization of dopamine systems in the NAcc core and shell. *Neuroscience* 1992;46:26-51.
- 60 Zahm DS, Brog JS. On the significance of subterritories of the accumbens part of the rat ventral striatum. *Neuroscience* 1992;50:751-767.
- 61 Coe G, Lee D, Guskal O, Feldon J, Weiner J. The effects of electrolytic lesion to the shell subterritory of the NAcc on the delayed non-matching to sample and four-arm, baited eight-arm radial maze tasks. *Behav Neurosci* 1997; 111:92-105.



3



**Fig. 2.** Firing rate of NAcc neurons after 21-day regimen of clomipramine. The firing rate of the neurons reduced by stimulation of the VTA (inhibition VTA) was also lower after clomipramine treatment than in the control group. There were no changes in the group of neurons that did not respond to the stimulus (nonrespondents). □ = S-CF group; ■ = CMI-CF group. \*  $p < 0.05$  versus control group, Mann-Whitney U test; n = number of recorded neurons.



**Fig. 3.** Firing rate of the NAcc neurons in a 21-day regimen of fluoxetine. The firing rate of the neurons reduced by stimulation of the VTA (inhibition VTA) was also lower in the group treated with fluoxetine than in the control group. There were no changes in the group of neurons that did not respond to the stimulus (nonrespondents). □ = S-CF group; ■ = FLX-CF group. \*  $p < 0.05$  versus control group, Mann-Whitney U test; n = number of recorded neurons.

TRABAJO DE  
FALLA DE ORIGEN

N

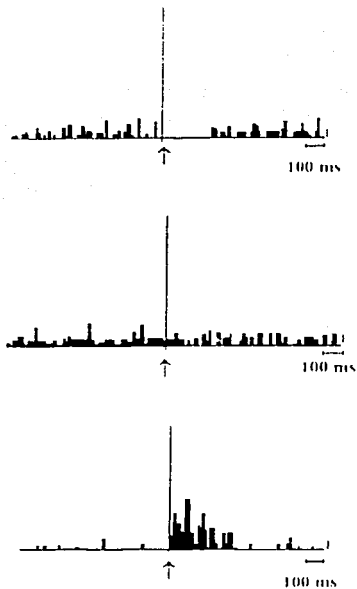


Fig. 1. Sample of peristimulus histograms of the NAcc neurons after VTA electrical stimulation. **a** Reduced firing VTA neurons. **b** Non-dependent neurons. **c** Increased firing cells. The arrow (↑) points out the moment of stimulus application. 500 ms were analyzed before and 500 ms after the stimulus. Note that in the group with reduced firing the firing rate is abolished for some milliseconds after VTA electrical stimulation.

18  
9  
0  
1  
2  
3

21

**Table 1.** Duration of inhibitory response in the NAcc neurons to electrical stimulation of the VTA during saline, clomipramine and fluoxetine acute and chronic treatments

Group	Number of cells	Duration of inhibition, ms
S <sub>1</sub> -Ac	12	86.3 ± 4.3
CMI-Ac	16	47.7 ± 6.9
S <sub>1</sub> -Ch	23	44.7 ± 4.8
CMI-Ch	23	192.8 ± 11.5 <sup>a</sup>
S <sub>2</sub> -Ac	18	47.6 ± 4.7
FLN-Ac	19	53.7 ± 3.7
S <sub>2</sub> -Ch	13	50.4 ± 6.5
FLN-Ch	15	195.3 ± 14.3 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> p < 0.001 versus S<sub>1</sub>-Ac, CMI-Ac and S<sub>1</sub>-Ch

<sup>b</sup> p < 0.001 versus S<sub>2</sub>-Ac, FLN-Ac and S<sub>2</sub>-Ch

## REFERENCIAS

- Abramson LY, Seligman MEP (1977). Modelling psychopathology in the laboratory: History and rationale. In: Maser JD, Seligman MEP (Eds.), *Psychopathology: Animal models*. Freeman, San Francisco, pp. 1-26.
- Agnouf A, Hollrigel G, O'Dowd DK (1996). Functional GABAergic synaptic connection in neonatal mouse barrel cortex. *Neuroscience*, 16(15):4684-4695.
- Alonso SI, Castellano MA, Alfonso D, Rodriguez M (1991). Sex differences in behavioral despair: Relationship between behavioral despair and open field activity. *Physiol Behav*, 49:69-72.
- American Psychiatric Association (1994). *DSM-IV. Diagnostic and statistical manual of mental disorders - 4th ed*. Washington, American Psychiatric Association, pp. 345-359.
- Angst J, Vollrath M, Merikangas KR, Ernst G (1999). Comorbidity of anxiety and depression in the Zurich cohort study of young adults. In: Maser JD, Cloninger (ed). *Comorbidity of mood and anxiety disorders*. Washington: American Psychiatric Press.
- Anisman H, Iwam E, Sklar J S (1979). Deficits of escape performance following catecholamine depletion: Implications for behavioral deficits induced by uncontrollable stress. *Psychopharmacology*, 64(2):163-170.
- Aranjo V, Fimbreser P, Marzok PM, Chen SE, Lamey H, Stanley M, Reis DJ, Mann JJ (1999). Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiat*, 47(11):1038-1047.
- Atali G, Weizman A, Gil Ad I, Relavi M (1997). Opposite modulatory effects of ovarian hormones on rat brain dopamine and serotonin transporters. *Brain Res*, 756(1-2):153-159.
- Backstrom T, Bixo M, Hammarback S (1988). Ovarian steroid hormones: Effects on mood, behaviour and brain excitability. *Acta Obstet Gynecol Scand (suppl)* 130:19-24.
- Baldessarini RJ (1991). Los fármacos y el tratamiento de las enfermedades psiquiátricas. En: Goodman GA, Raf, IW, Niess AS, Taylor P (eds). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8va ed. Medica Panamericana, México, DE, pp. 381-432.
- Bal Klara A, Hud MM (1999). The effects of various antidepressant drugs on the fine-structure of neurons of the cingulate cortex in culture. *Neuroscience* 32(3):685-692.
- Barbaccia ME, Rossetti G, Trabucchi M, Mostallino MC, Purdy RH, Biggio G (1996). Time-dependent changes in rat brain neuroactive steroids concentrations and GABA<sub>A</sub> receptor function after acute stress. *Neuroendocrinology*, 63: 166-172.
- Barbaccia ME, Rossetti G, Trabucchi M, Purdy RH, Mostallino MC, Concas A, Biggio G (1997). The effects of inhibitors of GABAergic transmission and stress on brain and plasma allopregnanolone concentrations. *Br J Pharmacol*, 120:1582-1588.
- Baulieu EE (1991). Neurosteroids: a new function in the brain. *Biol Cell*, 71(1):23-30.
- Baulieu EE, Schumacher M, Koenig H, Jung Testas I, Akwa Y (1996). Progesterone as a neurosteroid: actions within the nervous system. *Cell Mol Neurobiol*, 16:143-153.
- Becker JB, Beer ME (1986). The influence of estrogen on nigrostriatal dopamine activity: behavioral and neurochemical evidence for both pre- and postsynaptic components. *Behav Brain Res*, 19(1):27-33.
- Becker JB, Radtke CN (1999). Rapid effects of estrogens or progesterone on the amphetamine-induced increase in striatal dopamine is enhanced by estrogen priming: a microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav*, 64(1):53-57.
- Berlanga C (1993). La comorbilidad en los trastornos afectivos. *Salud Mental*, 19(1):2-3.
- Berlanga C (1996). Evaluacion clinica y tratamiento de los pacientes con trastornos de angustia: estado actual y perspectivas. *Salud Mental*, 19(4):52-57.
- Bernardi M, Vergoni AV, Sandini M, Lughvani S, Bertolini A (1989). Influence of ovariectomy, estradiol and progesterone on the behavior of mice in an experimental model of depression. *Physiol Behav*, 45:1067-1068.
- Bickova M, Diebhel L, Hill M, Hampf R, Starka L (1998a). Allopregnanolone in women with premenstrual syndrome. *Horm Metab Res*, 30:227-230.
- Bickova M, Pütz Z, Hill M, Hampf R, Diebhel L, Tollvoja J, Starka L (1998b). Serum levels neurosteroid allopregnanolone in patients with premenstrual syndrome and patients after thyroidectomy. *Endocr Regul*, 32(2):87-92.
- Biegan A, Fischeffe CG, Rambowin TC, McEwen BC (1982). Serotonin receptor modulation by estrogen in discrete brain nuclei. *Neuroendocrinology*, 35:287-291.
- Biran D, Hilvers RJ, Kellogg C (1991a). Anxiolytic effect of 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ ( $\beta$ )pregnan-20-one endogenous metabolites of progesterone that are active at the GABA<sub>A</sub> receptor. *Brain Res*, 561:157-161.

- Bitran D, Hilvers RI, Kellogg C (1991b) Ovarian endocrine status modulates the anxiolytic potency of diazepam and the efficacy of gamma aminobutyric acid-benzodiazepine receptor mediated chloride ion transport. *Behav Neurosci*, 105(5):653-662.
- Bitran D, Meliod M, Shickl M (1995) Blokade of the bioconversion of progesterone to allopregnanolone prevents the anxiolytic effects and potentiation of cortical GABA<sub>A</sub> receptor function observed in progesterone-treated ovariectomized rats. *Soc Neurosci Abstr*, 19:373-379.
- Blier P, de Montm C, Terfili C (1984) Effect of two drugs antidepressant, imipramin and maldipin on the serotonergic system - single cell studies in the rat. *Psychopharmacol*, 84(2):242-249.
- Bombonne S, Esposito F (1998) Involvement of serotonin and dopamine in the mechanism of action of novel antidepressant drugs: a review. *J Clin Psychopharmacol*, 18(6):447-481.
- Borsini E, Giuliani S, Meli A (1986) Functional evidence for altered activity of GABAergic receptors following chronic desipramine treatment in rats. *J Pharm Pharmacol*, 38(12):934-935.
- Borsini E, Meli A (1988) Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*, 94:164-170.
- Borsini E, Volterra G, Meli A (1986) Does the behavioral "despam" test measure "despair"? *Physiol Behav*, 38:385-386.
- Borsini M, Lecci A, Sessano R, Frassin R, Meli A (1989) Discovery of antidepressant activity by forced swim test may depend on pre-exposure of rats to a stressful situation. *Psychopharmacology*, 97:183-188.
- Bowden C, Cheetham SC, Fowther S, Katona CTF, Compton MR, Horton RW (1997) Reduced dopamine turnover in the basal ganglia of depressed suicides. *Brain Res*, 769(1):135-140.
- Breier A, Charney DS, Heninger GR (1984) Major depression in patients with agoraphobia and panic disorders. *Arch Gen Psychiat*, 41:1129-1135.
- Breslau N, Schultz I, Peterson E (1995) Sex differences in depression: a role for preexisting anxiety. *Psychiat Res*, 58(1):1-12.
- Brixley M, Moret C (1993) Neurobiological mechanisms involved in antidepressant therapies. *Clin Neuropharmacol*, 16(5):387-400.
- Cabib S, Popfist SA (1996) Stress, depression and mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology Berl*, 128(4):331-342.
- Calderon-Narvaez G (1985) Depresión: causas, manifestaciones y tratamiento. Trillas, México, D.F.
- Canuzzo C, Plugny A, Canuzzo C, Gagliano M, Sabatino M (1993) Effects of desipramine and alprazolam in the forced swim test in rats after long-lasting termination of chronic exposure to picrotoxin and pentylenetetrazol. *Eur Neuropsychopharmacol*, 3:477-484.
- Canonaco M, Carelli A, Magri A (1993a) Steroid hormones and receptors of the GABA-A supramolecular complex. I. Benzodiazepine receptor level changes in some extralimbic brain areas of the female rat following sex steroid treatment. *Neuroendocrinology*, 57:965-973.
- Canonaco M, Favolaro R, Magri A (1993b) Steroid hormones and receptors of the GABA-A supramolecular complex. II. Progesterone and estrogens inhibitory effects on the chloride ion channel receptor in different forebrain areas of the female rat. *Neuroendocrinology*, 57:974-984.
- Carey MP, Billing AE, Fry JP (1992) Fluctuations in responses to diazepam during the oestrus cycle in the mouse. *Pharmacol Biochem Behav*, 41:719-725.
- Celada P, Ping MV, Casanovas JM, Guillazo G, Artigas E (2001) Control of dorsal raphe serotonergic neurons by the medial prefrontal cortex: involvement of serotonin 1A, GABA(A), and glutamate receptor. *J Neurosci*, 21(24):9917-9929.
- Cervo L, Origonachi G, Samanin R (1988) 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, a selective serotonin<sub>1</sub> receptor agonist, reduces the immobility of rats forced to swim by acting on the nucleus raphe dorsalis. *Eur J Pharm*, 158(1-2):53-59.
- Cervo L, Samanin R (1987) Evidence that dopamine mechanisms in the nucleus accumbens are selectively involved in the effect of desipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology*, 26(10):1469-1472.
- Chakravorty SG, Halbreich U (1997) The influence of estrogen on monoamine oxidase activity. *Psychopharmacol Bull*, 33(2):229-233.
- Contreras CM, Alcalá-Herrera V, Marván MI (1989) Action of antidepressants on the septal nuclei of the rat. *Physiol Behav*, 44(5):793-798.
- Contreras CM, Beltrán D, Saavedra M, Molina M (1995) The combination of several antidepressants is not synergistic on the firing of lateral-septal neurons in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Psychiat*, 19(7):1157-1162.

- Contreras CM, Chacon I, Rodríguez-Landa JE, Bernal-Morales B, Gutiérrez-García AG (2004). Spontaneous firing rate of lateral septal nucleus neurons decreases after forced swim test in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr*, en prensa.
- Contreras CM, Martínez-Mota T, Saavedra M (1998). Desipramine restricts cycle oscillations in swimming. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr*, 22:1121-1128.
- Contreras CM, Marván MI, Alcalá Herrera V (1993a). Sleep deprivation is a less potent agent than clomipramine in increasing firing rate in lateral septal neurons in the rat. *Neuropsychobiology*, 27(2):83-85.
- Contreras CM, Marván MI, Alcalá Herrera V, Guzmán Saenz MA (1990a). Chronic clomipramine increases firing rate in the lateral septal nuclei of the rat. *Physiol Behav*, 48(4):551-554.
- Contreras CM, Marván MI, Alcalá Herrera V, Yezha A (1989). Relations between anxiety, psychophysiological variables and menstrual cycle in healthy women. *Bol Fed Med Biol Mex*, 37:50-56.
- Contreras CM, Marván MI, Márquez C, Chacon I, Guzmán Saenz MA, Barradas A, Lara H (1990b). La plasticidad del sistema nervioso y el mecanismo de acción de las terapias antidepresivas. *Salud Mental*, 13(1):39-48.
- Contreras CM, Marván MI, Ramírez Morales A, Muñoz-Méndez A (1993b). Clomipramine enhances the excitatory actions of raphe nucleus stimulation in lateral septal neurons in the rat. *Neuropsychobiology*, 27:80-82.
- Contreras CM, Molina M, Saavedra M, Martínez-Mota T (2000). Lateral septal neuronal firing rate increases during proestrus estrus in the rat. *Physiol Behav*, 68:279-284.
- Contreras CM, Rodríguez-Landa JE, Gutiérrez-García AG, Bernal-Morales B (2001). The lowest effective dose of fluoxetine in the forced swim test significantly affects the firing rate of lateral septal nucleus neurons in the rat. *J Psychopharmacol*, 15(4):231-236.
- Costa L, Anta J, Gundlach A, Konecny A, Romeo J (1994). The pharmacology of neurosteroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 49:385-389.
- Cullinan WE, Herman JP, Battaglia DE, Akil H, Watson SJ (1995). Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience*, 64(2):477-505.
- Dahlstrom A, Frye K (1994). Evidence for the existence of monoamine containing in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol Scand* 62:1-55.
- D'Aquila PS, Peana AI, Carboni V, Serra G (2000). Exploratory behavior and grooming after repeated restraint and chronic mild stress: effect of desipramine. *Eur J Pharmacol*, 399(1):43-47.
- De Montis G, Devoto P, Ciessa GL, Melloni D, Porcella A, Saba P, Serra G, Laganomi A (1990). Central dopaminergic transmission is selectively increased in the limbic system of the rat chronically exposed to antidepressants. *Eur J Pharmacol*, 189(1):31-35.
- De Paermentier F, Cheetham SC, Crompton ME, Katona CFF, Horton RW (1993). Brain  $\beta$ -adrenoceptor binding site in depressed suicide victims: effect of antidepressant treatment. *Psychopharmacology*, 108:283-288.
- Demierstein I, Spencer-Gadner C, Gotts G, Brown JB, Smith MA, Burrows GJ (1985). Progesterone and the premenstrual syndrome: a double-blind crossover trial. *Br Med J*, 290:1617-1621.
- Dernardi M, Verriani AV, Sandrini M, Leflyvian S, Bertolini A (1989). Influence of ovariectomy, Estradiol and progesterone on the behavior of mice in a experimental model of depression. *Physiol Behav*, 45(5):1067-1068.
- Detke MJ, Johnson J, Lucki I (1997). Acute and chronic antidepressant drugs treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol*, 8(2):107-112.
- Díaz Meza H (2000). Acción de la administración *in situ* de la progesterona sobre la actividad neuronal del septum lateral de la rata. Tesis recepcional de Doctorado en Psicología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Díaz Veliz G, Uresca E, Dussaubat N, Mora S (1991). Effects of estradiol replacement in ovariectomized rats on conditioned avoidance responses and other behaviors. *Physiol Behav*, 50:61-65.
- Díaz Veliz G, Uresca E, Dussaubat N, Mora S (1994). Progesterone effects on the acquisition of conditioned avoidance responses and other motoric behaviors in intact and ovariectomized rats. *Psychoneuroendocrinology*, 19(4):387-394.
- Drujan RC, Skolnick P, Paul SM, Crawley JS (1986). Low doses of mifepristone produce anticonflict actions in the lateral septum of the rat. *Neuropharmacology*, 25(2):203-205.
- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ (1997). A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatr* 54:597-606.
- Duncan G, Breese G, Cuswell H, Stumpf W, Muller R, Covey J (1996). Effects of antidepressant drugs injected into amygdala on behavioral responses of the rats in the forced swim test. *J Pharmacol Exp Ther*, 238(2):758-762.
- Duncan GE, Johnson KB, GR Breese (1993). Topographic patterns of brain activity in response to swim stress: assessment by 2-deoxyglucose uptake and expression of fos-like immunoreactivity. *J Neurosci*, 13:3932-3943.

- Edeon J, Halbreich U (1988). Clinical significance of premenstrual dysphoric changes. *J Clin Psychiat*, 49:486-489
- Egubiar JR, Moyaho A (1997). Inhibition of grooming by pilocarpine differs in high- and low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 58(2):317-322
- Espeso EF, Muñoz JI (1999). Prefrontocortical dopamine depletion induces antidepressant-like effects in rats and alters the profile of desipramine during Porsolt's test. *Neuroscience*, 88(2):609-615
- Esposito F (1996). An indirect action for fluoxetine on the dopamine neurotransmitter system. *THPS* 17:400-401
- Estrada Camarena E, CM Contreras, M Saavedra, I Luna-Baltazar, C Lopez-Rubalcava (2002). The lateral septal nucleus (LSN) participate in the antidepressant like actions of progesterone. *Behav Brain Res*, 134:175-183
- Evangelista S, Borsoi A, Meli AA, Menardi S (1987). Evidence that muscimol act in the forced swimming test by activating the rat dopaminergic system. *J Life Sci*, 41(24):2679-2684
- Famer C, Isakson IR, Coy DJ, Remer KI (1996). In vivo evidence for progesterone dependent decreases in serotonin releases in the hypothalamus and midbrain central gray: relation to the induction of lordosis. *Brain Res*, 711:84-92
- Feder H (1981). Estrus cyclicity in mammals. *En: Alder NI (ed) Neuroendocrinology of reproduction: Physiology and Behavior*. New York: Plenum Press, pp 279-348
- Fernandez-Guasti A, Lopez-Rubalcava C, Perez-Urizai I, Castaneda Hernandez C (1992). Evidence for a post-synaptic action of the serotonergic anxiolytics: ipsapirone, indorenal and buspirone. *Brain Res Bull*, 28:497-501
- Fernandez-Guasti A, Martinez-Mota I, Estrada Camarena E, Contreras CM, Lopez-Rubalcava C (1999). Chronic treatment with desipramine induces an estrus cycle dependent anxiolytic-like action in the burying behavior, but not in the elevate plus maze test. *Pharmacol Biochem Behav*, 63(1):13-20
- Fernandez-Guasti A, Pheazo O (1990). The actions of diazepam and serotonergic anxiolytics vary according the gender and the estrous cycle phase. *Pharmacol Biochem Behav*, 37:77-81
- Fernandez-Guasti A, Pheazo O (1995). Flumazenil blocks the anxiolytic action of allopregnanolone. *Eur J Pharmacol* 281:113-115
- Fernandez-Guasti A, Pheazo O (1999). Sexual differentiation modifies the allopregnanolone anxiolytic actions in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 24(3):251-267
- Fernandez-Leurel A, Borx F, Escobedo RM, Yáñez P, Tobeña A (1988). Sodium valproate reduces immobility in the behavioral "despair" test in rat. *Eur J Pharmacol*, 152:1-7
- Fibiger HC (1995). Neurobiology of depression: a focus on dopamine. *En: Gessa G, Fratta W, Pan L, Serra G (eds). Depression and mania: from neurobiology to treatment*. New York: Raven Press, pp 1-17.
- Link G, Sumner B, Rosie R, Greece O, Quinn J (1996). Estrogen control of central neurotransmission: effects of mental state and memory. *Cell Mol Neurobiol*, 16(3):325-344
- Frandleum PC, Jones CR (1989). Additive effect to desipramine and 8-OH-DPAT on  $\beta$ -adrenoceptor down-regulation. *Br J Pharmacol*, 98:918
- Freeman EW, Pinfly RH, Conifari C, Rickels K, Paul SM (1993). Anxiolytic metabolites of progesterone: correlations with mood and performance measures following oral progesterone administration to healthy females volunteers. *Neuroendocrinology*, 58:478-484
- Freeman MF (1985). The ovarian cycle of the rat. *En: Knobil E, Neill J (ed) The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, pp 1893-1912
- Frye CA, Wolf AA (2002). Changes in progesterone metabolites in the hippocampus can modulate open field and forced swim test behavior of oestrogen rats. *Horm Behav*, 41(3):306-315
- Gambiarra C, Ghilgheri O, Tagliamonte A, D'Alessandro N, De Montis MG (1995). Critical role of D1 dopamine receptors in mediating the antidepressant effect of imipramine. *Pharmacol Biochem Behav*, 50(2):147-151
- Gambiarra C, Masi F, Tagliamonte A, Scheggi S, Ghilgheri O, De Montis MG (1999). A chronic stress that impairs reactivity in rats also decreases dopaminergic transmission in the nucleus accumbens: a microdialysis study. *J Neurochem*, 72(5):2039-2046
- Gee K, Bolser M, Briton R, Conam H, McLewen B (1988). Steroid modulation of the chloride ionophore in rat brain: structure-activity requirements, regional dependence and mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther*, 246(2):803-812
- Gemziani A, Gastaldi M, Bidzinska B, Mercuri M, Gemziani AD, Nappi R, Segre A, Petralgia F (1992). The brain is target organ of gonadal steroids. *Psychoneuroendocrinology*, 17(4):385-399
- Gerber JC, Nies AS (1991). Agentes antihipertensivos y farmacoterapia de la hipertensión. *En: Goodman GA, Ral, TW, Niess AS, Taylor P (eds) Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8va ed. Médica Panamericana, México, D.F. pp 766-793.
- Giermer RH, Hare TA (1981). CSF GABA in normal subjects and patients with depression, schizophrenia, mania and anorexia nervosa. *Am J Psychiat*, 138:1098-1101.



- Gindler SS, Strameva PA, Light KC, Pedersen CA, Morrow AL (2001). Allopregnanolone levels and reactivity to mental stress in premenstrual dysphoric disorder. *Biol Psychiat*, 49(9):788-97
- Gioiote MG, Bird SW, Winkler KC, Kantak NM (1998) Septal regulation of male sex behavior in rats. *Physiol Behav* 57:1205-1207
- Gold BI, Bowers MB, Roth RH, Sweney DW (1980). GABA levels in CNS of patients with psychiatric disorders. *Am J Psychiat*, 137: 362-364
- Gomez RE, Pirra G, Camata MA (1989). Open field behavior and cardiovascular responses to stress in normal rats. *Physiol Behav*, 48(4): 767-769
- Griffin LD, Conrad SC, Mellon SH (2001). Current perspectives on the role of neurosteroids in PMS and depression. In: Burgoy G, Purdy RH (eds) Neurosteroids and brain function. San Diego: Academic Press, pp 479-492
- Gutierrez Garcia AG, Contreras CM, Diaz-Meza H. (2000) Como actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central. *Salud Mental*, 23(2):42-48
- Gutierrez-García AG, Contreras CM, Díaz-Meza H., Bernal Morales B, Rodríguez-Landa H, Saavedra M (2003) Intraaccumbens dopaminergic lesion suppresses the effects of desipramine in the forced swim test but not in neuronal activity of lateral septal nucleus. *Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiat*, 27(5): 809-818.
- Hallbreich U (1997). Hormonal interventions with psychopharmacological potential: an overview. *Psychopharmacol Bull*, 33(2): 281-286.
- Hallbreich U, Endrich L, Gohlstein S, See J (1986). Premenstrual and changes in gonadal hormones. *Acta Psychiat Scand*, 74: 576-586.
- Hammer M, Diamond BI (1996). Plasma dopamine and norepinephrine: correlations with psychomotor retardation, anxiety and depression in non-psychotic depressed patients: a pilot study. *Psychiatry Res*, 64(3):209-211.
- Harris B, Lovett L, Mewcombe RG, Read GF, Walker R, Rias Fahmy D (1994). Maternity blues and major endocrine changes. *Cardiff preperatal mood and hormone study II. Brit Med J*, 308(6934):949-953.
- Hata T, Nishimura Y, Kira I, Itoh I, Kawabata A (1988). The abnormal open-field behavior of SARI-stressed rats and effects of some drugs on it. *Jpn J Pharmacol*, 48(4):479-490
- Hemke C, Jusoffe A, Juptner M (1991). Evidence that 3 alpha-hydroxy-5 alpha-pregnan-20-one is a physiologically relevant modulator of GABAergic neurotransmission. *Psychoneuroendocrinology*, 16(6): 517-523.
- Hirschfeld RMA, Klerman GL (1984). Sex-related differences in depression: a reappraisal. *Psychopharmacology Bull*, 20(3):472-474
- Holna PD, Loy B, Heppner A, Summers RJ (1990). Antidepressant binding sites in brain: auto-radiographic comparison of [<sup>3</sup>H]imipramine and [<sup>3</sup>H]paroxetine localization and relationship to serotonin transporter. *J Pharmacol Exp Ther* 252:410-418
- Huang YH (1979a). Chronic desipramine treatment increase activity of noradrenergic postsynaptic cells. *Life Sci*, 25(8): 709-716
- Huang YH (1979b). Net effect of acute administration of desipramine on the locus coeruleus-hippocampal system. *Life Sci*, 25(9): 739-746
- Iaiswal AK (2002). Effect of prenatal alprazolam exposure on anxiety patterns in rat offspring. *Indian J Exp Biol*, 40(1): 35-39
- Ikab RL, Harada N, Naitoh F (1994). Aromatase (estrogen synthetase) immunoreactive neurons in the rat septal area: A light and electron microscopic study. *Brain Res*, 664: 85-93
- Ikab RL, Yonathy H, Teramth C, Harada N, Naitoh F (1993). Aromatase immunoreactivity in the rat brain: gonadectomy-sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive "limbic ring" of the lateral septum-bed nucleus amygdala complex. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 44(4-6):481-498
- Ikab RL, Teramth C (1999). Catecholaminergic, GABAergic, and hippocampal septal innervation of GABAergic "somatospiny" neurons in the rat lateral-septal area. *J Comp Neurol*, 302(2): 305-321.
- Ikab RL, Teramth C (1991). Synaptology and origin of somatostatin fibers in the rat lateral septal area: convergent somatostatinergic and hippocampal inputs of somatostatin neurons. *Brain Res*, 565(1):123-134
- Ikab RL, Teramth C (1995). Septum. In: Paxinos G (ed). *The rat nervous system*. New York: Academic Press, pp 405-442
- Imerson DC (1987). Role of dopamine mechanisms in the affective disorders. In: Meltzer HY, (ed), *Psychopharmacology, the third generation of progress*. New York, Raven Press, pp 505-511.
- Jockl M, Urban JA (1985). Montanamine-induced responses in lateral septal neurons: influence of antiphotorecally applied vasopressin. *Brain Res* 344:120-126
- Karya H, Namba M, Yoshida H, Nakamura S (1982). Plasma glutamate decarboxylase activity in neuropsychiatry. *Psychiat Res*, 6: 335-343
- Kapur S, Mann JJ (1992). Role of the dopaminergic system in depression. *Biol Psychiat*, 32(1):1-17.

- Ernteman M, Moghaddam B (1996) The prefrontal cortex regulates the basal release of dopamine in the limbic striatum: an effect mediated by ventral tegmental area. *Neurochemistry*, 66(2):589-598.
- Kawata M (1995) Roles of steroid hormones and their receptors in structural organization in the nervous system. *Neurosci Res*, 24:1-46.
- Klustri R L, Chopde C L (2000) Serotonergic agents modulate antidepressant-like effect of the neurosteroid  $\Delta$ alpha-hydroxy  $\Delta$ alpha-pregnan-20-one in mice. *Brain Res* 26:865(2) 291-300.
- Klustri R L, Chopde C L, Jam SP (2000) Antidepressant-like effect of the neurosteroid 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one in mice forced swim test. *Pharmacol Biochem Behav* 67:137-143.
- Kubys L G, Allen AR, Lucki I (1995) Regional differences in the effects of forced swimming on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 282(2):967-976.
- Kokate TG, Svensson BE, Rogawski MA (1994) Anticonvulsant activity of neurosteroids: correlation with gamma-aminobutyric acid-evoked chloride current potentiation. *J Pharmacol Exp Ther*, 270(3):1223-1229.
- Kooly GL, Henrich SC, Bunton K (1995) Animal models of anxiety disorders. In: *Textbook of psychopharmacology*, Schatzberg AF, Nemeroff CB (Eds.), Washington, The American Psychiatry Press, Second edition, pp 133-144.
- Kovachich G, Frazer CE, Aronson CE (1993) Effect of chronic administration of antidepressant on  $\alpha_1$ -adrenoceptors in the locus coeruleus and its projections fields in the rat brain determined by quantitative autoradiography. *Neuropsychopharmacology*, 8:57-65.
- Kroboth PD, McAuley JW (1997) Progesterone - does it affect response to drug? *Psychopharmacol Bull*, 33(2):297-301.
- Kubli C (1993) Accion neuroendocrinal de las hormonas esteroides. En: Zarate I (ed) *Fundamentos de neuroendocrinología*. España. Biblioteca de la salud, pp 92-108.
- Kubria-Olliver RI (2000) Eficacia de los estrógenos conjugados en el tratamiento de la depresión durante el climaterio. Tesis recepcional de Maestría en Investigación Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.
- Ladisch W (1977) Influence of progesterone on serotonin metabolism: A possible causal factor for mood changes. *Psychoneuroendocrinology*, 2:257-266.
- Lambert J, Belelli D, Hill-Venning C, Peters J (1995) Neurosteroids and GABA<sub>A</sub> receptor function. *TIPS*, 16:295-303.
- Lambert J, Belelli D, Hill-Venning C, Callaghan H, Peters JA (1996) Neurosteroids modulation of native and recombinant GABA<sub>A</sub> receptors. *Cell Mol Neurobiol*, 16:155-174.
- Lloyd KO, Morselli PL, Depoortere H, Fourniere V, Zivkovic B, Scatton B, Broekkamp C, Worms P, Bartholm G (1989) The potential use of GABA agonist in psychiatric disorders: evidence from studies with progabide in animal models and clinical trials. *Pharmacol Biochem Behav*, 18:957-966.
- Lloyd KO, Zivkovic B, Sanger D, Depoiter H, Bartholm G (1987) Fengabide a novel antidepressant GABAergic agent. I. Activity in models for antidepressant drugs and psychopharmacological profile. *J Pharmacol Exp Ther*, 241(1):245-250.
- Lu SL, McKenna SE, Colover Clifford A, Nan F-A, Simon NG (1998) Androgen receptor in mouse brain: sex differences and similarities in autoregulation. *Endocrinology*, 139(4):1594-1601.
- MacLusky NI, McEwen BS (1980) Progesterin receptors in rat brain: distribution and properties of cytoplasmic progesterin binding sites. *Endocrinology*, 106(1):192-202.
- Magni A, Perez J (1984) Progesterone and estrogens in rat brain: modulation of GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) receptor activity. *Eur J Pharmacol*, 103:165-168.
- Mahesh VB, Brann DW, Hendry TB (1996) Diverse modes of action of progesterone and its metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 56(1-6):209-219.
- Maniewska MD (1992) Neurosteroids, endogenous bimodal modulators of the GABA receptor. Mechanism of action and physiological significance. *Prog Neurobiol*, 38:379-395.
- Maniewska MD, Harrison NL, Schwartz R, Baker J, Paul S (1986) Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science* 232:1004-1007.
- Maniewska MD, Mienville J, Vicini S (1988) Neurosteroid pregnenolone sulphate antagonizes electrophysiological responses to GABA in neurons. *Neurosci Lett*, 90:279-284.
- Mamer DH, Gillespie DD, Sulser F (1987) 5,7-dihydroxy-tryptamine induced lesions of serotonergic and desipramine induced down-regulation of cortical  $\beta$ -adrenoceptors: a re-evaluation. *Biochem Pharmacol*, 36(19):3308-3310.
- Martinez-Mota L, Contreras CM, Saavedra M (1999) Progesterone reduces immobility in rats forced to swim. *Arch Med Res*, 30:286-289.

- Martinez-Mota I, Estrada Camarena F, López Ruvaleva C, Contreras CM, Fernández-Gustás A (2000). Interaction of desipramine with steroid hormones on experimental anxiety. *Psychoneuroendocrinology*, 25:109-120.
- Marvan M, Guzman-Saenz MA, Barralás J, Contreras CM (1992). Septal neurons related with hippocampus increase their firing rate after long term clomipramine. *Bol Inst Med Biol*, 40(1-4):18-20.
- Maswood S, Stewart G, Iphofe T (1998). Gender and estrous cycle effects of the 5-HT<sub>1A</sub> receptors agonist, 8-OHDPAT, on hypothalamic serotonin. *Pharmacol Biochem Behav* 51(4):807-813.
- Matthews DR, Morrow AJ, Lokumaga A, S, McDaniel JR (2002). Acute ethanol administration and acute allopregnanolone administration impair spatial memory in the Morris water task. *Alcohol Clin Exp Res*, 26(11):1747-1751.
- McCarter BD, Kokkinds F (1988). The effect of long term administration of antidepressant drugs on intracranial self-stimulation responding in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 31:243-247.
- McLewen BS (1994). Non-genomic, non-genetic effects of steroids on neuronal activity. *JHPS* 12:141-147.
- McLewen BS, Buevon A, Davis PG, Krey LC, Linn VN, McGinnis MY, Paden CM, Parsons B, Rambow TC (1982). Steroid hormones: Immunol signals which alter brain cell properties and functions. *Recent Prog Horm Res*, 38:41-92.
- McLewen BS, Davis PG, Parsons B, Pfaff DW (1979). The brain as a target for steroid hormone action. *Ann Rev Neurosci*, 2:69-112.
- McLewen BS, DeKloet E, Rostene W (1986). Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. *Physiol Rev*, 66:1121-1188.
- McLewen BS, Parson B (1992). Gonadal steroid action on the brain: neurochemistry and neuropharmacology. *Ann Rev Pharmacol*, 22:585-598.
- Mellon SH, Vaudry H (2001). Biosynthesis of neurosteroids and regulation of their synthesis. In: Biggio G, Purdy RH (eds) *Neurosteroids and brain function*. San Diego: Academic Press, pp. 33-78.
- Mendels L, Frazer A, Fitzgerald RG, Ramsey JA, Stokes JW (1972). Biogenic amine metabolites in the cerebrospinal fluid of depressed and manic patients. *Science*, 175(28):1380-1382.
- Meng L, Dugan RC (1993). Sex differences in open field behavior in responses to the  $\beta$  carboline 1G7142 in rats. *Physiol Behav*, 54:701-708.
- Mensah-Nyagan AG, Do-Rego JL, Beaman D, Luu-The V, Pelletier G, Vaudry H (1999). Neurosteroids, expression of steroidogenic enzymes and regulation of steroid biosynthesis in the central nervous system. *Pharmacol Rev*, 51(1):63-81.
- Memmagn A, Obach R, Garcia-Sevilla JA (1990). Modulation by antidepressant drugs of CNS alpha-adrenoreceptor mediations mydriasis in the rat. *Arch Pharmacol*, 341(1-2):101-107.
- Mizuta I, Sagawa I (1989). Chronic effects of imipramine and lithium on 5-HT<sub>1</sub> receptors subtypes in the rat frontal cortex, hippocampus and choroid plexus: quantitative receptor autoradiographic analysis. *Jap J Pharmacol*, 50(3):315-326.
- Molina-Hernandez M, Contreras CM, Tellez-Alcantara P (2000). Diazepam increases the number of punished responses in a conflict-operand paradigm during late proestrus and estrus in the Wistar rat. *Neuropsychobiology* 2001:43(1):29-33.
- Molina-Hernandez M, Tellez-Alcantara P (2001). Antidepressant like actions of pregnancy, and progesterone in Wistar rats forced to swim. *Psychoneuroendocrinology* 2001:26(5):479-91.
- Morissette M, Di Paolo L (1993). Effect of chronic estradiol and progesterone treatments of ovariectomized rats on brain dopamine uptake sites. *J Neurochem*, 60(5):1876-1883.
- Morrow AJ, Devaud LL, Purdy RH, Paul SM (1998). Neuroactive steroid modulators of the stress response. *Ann NY Acad Sci*, 771:287-272.
- Moyaho A, Valencia J (2002). Grooming and yawning trace adjustment to unfamiliar environments in laboratory Sprague-Dawley rats (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol*, 116(4):263-269.
- Murphy CA, DiAmillo AM, Haun F, Murray M (1996). Lesion of the tubercular efferent pathway produces anxiety and locomotor hyperactivity in rats: a comparison of the effects of neonatal and adult lesions. *Behav Brain Res*, 81(1-2):43-52.
- Nakagawa Y, Ishima I, Ishibashi Y, Yoshii Y, Takashima I (1996). Involvement of GABA(B) receptor systems in action of antidepressants: baclofen but not brexetilium attenuates the effects of antidepressant on the forced swim test in rats. *Brain Res*, 709(2):215-220.
- Nappi RF, Petraglia F, Furst P, Polati F, Farina C, Genazzani AR (2001). Obstet Gynecol, 97(1):77-80.
- Olds J, Millner P (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol*, 47(1):419-427.

- Owens MJ, Nemeroff CB (1994) Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem*, 40(2):288-295.
- Pasquini C, Olivier V, Gurbert B, Fran O, Level V (1996). Rapid stimulation of striatal dopamine synthesis by estradiol. *Cell Mol Neurobiol*, 16(3):411-415.
- Paul SM, Purdy RH (1992) Neuroactive steroids. *EASEB J* 6:2311-2322.
- Paxinos G, Watson C (1982) The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York.
- Pearlstein TB (1995) Hormones and depression: what are the facts about premenstrual syndrome, menopause, and hormone replacement therapy? *Am J Obstet Gynecol*, 173:646-653.
- Perez J, Zucchi I, Maggi A (1986). Sexual dimorphism in the response of GABAergic system to estrogen administration. *J Neurochem*, 47:1798-1803.
- Pesold C, Trent D (1994). The septum and amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Brain Res*, 638(1-2):295-301.
- Pesold C, Trent D (1996). The neuroanatomical specificity of the anxiolytic effects of intra-septal infusions of midazolam. *Brain Res*, 710(1-2):161-16.
- Petty F (1995) GABA and mood disorders: a brief review and hypothesis. *J Affect Disor*, 34:275-281.
- Plaf D, Keiner M (1973). Atlas of estradiol-concentrating cells in the rat nervous system of the female rat. *J Comp Neurol*, 151:121-158.
- Plaf D, Keiner M (1973). Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. *J Comp Neurol*, 151(2):121-158.
- Phelan KD, Hasuo H, Iwery MJ, Gallagher JP (1997) Projection neurons in the rat dorsolateral septal nucleus possess recurrent axon collaterals. *Neurosci Lett*, 97(3):259-265.
- Picazo O, Fernandez-Guasti A (1993). Changes in experimental anxiety during pregnancy and lactation. *Physiol Behav*, 54(2):295-299.
- Picazo O, Fernandez-Guasti A (1995). Anti-anxiety effect of progesterone and some of its metabolites: an evaluation using the burying behavior test. *Brain Res*, 680:135-141.
- Pile A, Loyd KG (1984). Chromic antidepressant and GABA B receptors: a GABA hypothesis of antidepressant drugs action. *Life Sci*, 35:2149-2154.
- Poncelet M, Martin P, Danté S, Soubrie P (1987). Noradrenergic rather than GABAergic processes as the common mediation of the antidepressant profile of GABA agonists and imipramine-like drugs in animals. *Pharmacol Biochem Behav*, 28(3):321-326.
- Porsolt RD, Lenegre A (1992). Behavioral model of depression. In: *Experimental approaches to anxiety and depression*. Elliot JM, Heal DJ, Maudslay CA (Eds.), John Wiley & Sons Ltd: New York, pp 73-85.
- Porsolt RD, Lenegre A, McArthur RA (1991). Pharmacological models of depression. In: *Olivier V, Mos J, Slangen JL (eds) Animal models in psychopharmacology - advances in pharmacological science*. Switzerland: Birkhäuser Verlag, pp 137-159.
- Porsolt RD, Pichon JM, Jalfre M (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature*, 266:730-732.
- Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, S., Jalfre, M., 1978. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. *Eur J Pharmacol* 47, 379-391.
- Prasad A, Imura M, Prasad C (1997). Dihydroepiandrosterone decreases behavioral despair in high-but not in low-anxiety rats. *Physiol Behav*, 62(5):1053-1057.
- Price LH, Chamey DS (1989). Receptor sensitivity in depression. *Psychiatr Lett*, 4(1):71-76.
- Price WA, Di Marzio F (1986). Premenstrual tension syndrome in rapid-cycling bipolar affective disorder. *J Clin Psychiatr*, 47:415-417.
- Puri G, Smith MR, Vicini S, Pritchett DB, Purdy RH, Paul SM, Seeburg PH, Costa E (1990). Neurosteroids act on recombinant human GABA receptors. *Neuron*, 4(5):759-765.
- Purdy R, Morrow A, Moore P, Paul S (1991). Stress-induced elevation of g-aminobutyric acid type A receptor-active steroids in the rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88:4553-4557.
- Rambow J, Parson B, McEwen B (1982). Sex differences in rat brain oestrogen and progesterone receptors. *Nature*, 300:648-649.
- Randrup A, Munkvad L, Fog R, Gerlach J, Molander L, Kjellberg B, Scheel-Kruger J (1975). Mama, depression and brain dopamine. In: *Essman WB, Valzelli F (eds), Current developments in psychopharmacology*. New York: Spectrum Publications, pp 207-229.
- Rapkin AJ, Edelmuth E, Chang L, Reading AF, McGuire ML, Su TP (1987). Whole-blood serotonin in premenstrual syndrome. *Obstet Gynecol*, 70:533-537.

- Rapkin AI, Morgan M, Goldman E, Bram DW, Simone D, Mahesh VB (1997). Progesterone metabolite allopregnanolone in women with premenstrual syndrome. *Obstet Gynecol*, 90(5):709-714.
- Rehavi M, Goldin M, Roiz N, Weizman A (1998). Regulation of rat brain vesicular monoamine transporter by chronic treatment with ovarian hormones. *Mol Brain Res*, 1(57):31-37.
- Ridger AP (1975). Biochemistry of depression. A review. *Brit Med Res, Suppl*, 3(1):42-54.
- Rodríguez-Landa JF (2000). Efecto del tratamiento agudo y crónico con clomipramina y fluoxetina sobre la frecuencia de disparo de las neuronas del núcleo accumbens relacionadas con el área tegmental ventral de la rata. Tesis doctoral de Maestría en Neurociencia. Universidad Veracruzana.
- Rodríguez-Landa JF, Contreras CM (1998a). Algunos datos recientes sobre la fisiopatología de los trastornos por ansiedad. *Rev Biomed*, 9(3):181-191.
- Rodríguez-Landa JF, Contreras CM (1998b). Los fármacos antidepressivos y sus acciones en algunas estructuras del sistema límbico. *La Ciencia y el Hombre*, 30(10):51-63.
- Rodríguez-Landa JF, Contreras CM (2000). Los fármacos antidepressivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Arch Neurocienc (Méx)*, 5(2):74-83.
- Rodríguez-Landa JF, Contreras CM, Gutiérrez García AG, Bernal Morales B. Chronic, but not acute, clomipramine or fluoxetine treatment reduces firing rate of mesoaccumbens neurons of the rat. *Neuropsychobiology* 2005; 48(3):116-123.
- Rodríguez-Landa JF, Gutiérrez García AG, Contreras CM (2001). Implicación del núcleo accumbens y del sistema dopaminérgico en las acciones neurofarmacológicas de las terapias antidepressivas. *Psicología y Salud*, 11(1):175-186.
- Rosenstein SF (1994). Diccionario de especialidades farmacéuticas. 40va. ed. Ediciones PLM. México, D.F.
- Rouge-Pont F, Mayo W, Mamelli M, Gingras M, Le Moal M, Piazza PV (2002). The neurosteroid allopregnanolone increases dopamine release and dopaminergic response to morphine in the rat nucleus accumbens. *Eur J Neurosci*, 16(4):169-173.
- Roy A, Pickar D, Elmohr M, Doran AR, Siman P, Paul SM (1985). Cerebrospinal fluid monoamine and monoamine metabolite concentrations in melancholia. *Psychiatry Res*, 15(4):281-292.
- Rupprecht R, Holsboer F (2001). Neuroactive steroids in neuropsychopharmacology. En: Biggio G, Purdy RH (eds) *Neurosteroids and Brain function*. San Diego: Academic Press, pp.461-477.
- Rupprecht R, Reul JM, Trapp L, van Steensel B, Wetzel C, Damm K, Ziegglansberger W, Holsboer F (1993). Progesterone receptor-mediated effects of neuroactive steroids. *Neuron*, 11(3):523-530.
- Rupprecht R (1997). The neuropsychopharmacological potential of neuroactive steroids. *J Psychiat Res*, 31(3):297-314.
- Rupprecht R, Hauser C, Trapp L, Holsboer F (1996). Neurosteroids: molecular mechanism of action and psychopharmacological significance. *J Steroid Molec Biol*, 50(1-6):163-168.
- Rutter JL, Gimdlah T, Auerbach SH (1995). Systemic uptake inhibition decreases serotonin release via somatodendritic autoreceptor activation. *Synapse* 20(3):1319-1324.
- Schuldkraut JJ (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiat*, 122(5):509-522.
- Schmid G, Sala R, Bonanno G, Raiteri M (1998). Neurosteroids may differentially affect the function of two native GABA<sub>A</sub> receptor subtypes in the rat brain. *N-S Arch Pharmacol*, 357(4):401-407.
- Schneider JS, Small GW, Hamilton SH, Bystritsky A, Nemeroff CB, Meyers BS (1997). Estrogen replacement to fluoxetine in a multicenter geriatric depression trial. *Am J Geriatr Psychiat*, 5:97-106.
- Segal M (1974). Responses of septal nuclei neurons to microiontophoretically administered putative neurotransmitters. *Life Sci* 1:24-371-373.
- Semba F, Kinoshita Y, Takahashi R (1989). Potential antidepressant properties of subchronic GABA transaminase inhibitors in the forced swimming test in mice. *Neuropsychobiology*, 21(3):152-156.
- Sherwin BB, Gelfand MM (1988). Sex steroids and affect in the surgical menopause: a double-blind, cross-over study. *Psychoneuroendocrinology*, 10(3):328-338.
- Siettnicks A, Meyerson BJ (1980). Enhancement by progesterone by lysergic acid diethylamide inhibition of copulatory response of female rats. *Eur J Pharmacol*, 63:57-64.
- Siettnicks A, Meyerson BJ (1982). Enhancement by progesterone of 5-hydroxytryptophan inhibition of the copulatory response in the female rat. *Neuroendocrinology*, 35:321-326.
- Silvestrini V, Valeri P (1984). Trazodone a new the avenue in the treatment of depression. *Psychopharmacol*, 17(2):3-4.
- Simmerly R, Chang C, Muramatsu M, Swanson W (1990). Distribution of androgen and estrogen receptors mRNA-containing cells in the rat brain: an in-situ hybridization study. *J Neuro*, 294:76-95.

- Singh Y, Jaiswal AK, Singh M, Bhattacharya SK (1997) Effect of prenatal haloperidol administration on anxiety patterns in rats. *Indian J Exp Biol*, 35(12):1284-1290.
- Sluzewska A, Nawakawska E, Stachowiak T (1992). Antidepressant-like effects of carbamazepine: the role of GABAergic agents. *Pharmacol Res*, 25(2):65-66.
- Soler-Huerta E (2001) Correlación entre depresión y niveles hormonales gonadales durante el embarazo. Tesis receptoral de Maestría en Investigación Química, Facultad de Medicina, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México
- Spitzer RL, Endicott J, Robins E (1978) Diagnostic criteria, rationale and reliability. *Arch Gen Psychiatr*, 35:773-782.
- Stallb S (1998) Basic psychopharmacology of antidepressants, part II: cistonen as an adjunct to antidepressant treatment. *J Clin Psychiatr*, 59(4):15-24.
- Strameva P, Girdler SS, Light KG, Benjamin SI, Morrow J (1999) Allopregnanolone, stress and mood in premenstrual dysphoric disorder. *Psychosomatic Med*, 61(1):87.
- Summer B, Imk G (1998) Estrogen increases the density of 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> receptors in cerebral cortex and nucleus accumbens in the female rat. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 54:15-20.
- Sunal R, Gummel B, Kayatip S (1994) Effect of changes in swimming area on results of "behavioral despair test". *Pharmacol Biochem Behav*, 49(4):891-896.
- Suzdak PD, Grammas G (1998) Parallel changes in the sensitivity of gamma-aminobutyric acid and noradrenergic receptor following chronic administration of antidepressant and GABAergic drugs. *Neuropsychopharmacol*, 24(3):217-222.
- Thomas F (1988) Forebrain mechanism in the relief of fear. The role of lateral septum. *Psychobiol* 16:36-44
- Thomas F, Yadin F, Strickland CE (1991) Septal unit activity during classical conditioning: a regional comparison. *Brain Res*, 547(2):303-308.
- Uzunov V, Shelme Y, Davis JM, Rasmussen A, Uzunov DP, Costa A, Gaudotti A (1998). Increase in the cerebrospinal fluid content of neurosteroids in patients with unipolar major depression who are receiving fluoxetine of fluvoxamine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95:3239-3244.
- Van Broekhoven E, Verkes RJ (2003) Neurosteroids in depression: a review. *Psychopharmacology (Berl)*, 165(2):97-110.
- Van Duijn HJ, Van der Heijden JA, Mos J, Tilders EJ (1992) Inescapable foot-shocks induce progressive and long-lasting behavioural changes in male rats. *Physiol Behav*, 51(4):787-794.
- Vargas V, Szekely AD, Csillag A, Sharp J, Hajos M (2001) Evidence for a role of GABA interneurons in the cortical modulation of midbrain 5-hydroxytryptamine neurons. *Neuroscience* 106(4):783-792.
- Vetulani J (1984) Complex action of antidepressant treatment on central adrenergic system: possible relevance to clinical effects. *Pharmacopsychiatry*, 17:16-21.
- Weissman MN, Mennegass KR (1986) The epidemiology of anxiety and panic disorders: an update. *J Clin Psychiatr*, 47:11-17.
- Wieland S, Lucki I (1990) Antidepressant-like activity of 5-HT<sub>1A</sub> agonist measured with the forced swim test. *Psychopharmacology*, 101:497-504.
- Willner P (1994). Animal models of depression. In: *Handbook of depression and anxiety: A biological approach*, Den Boer JA, Sitsen JM (eds.), Marcel Dekker, New York, pp 291-316.
- Willner P (1997). The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action. *Int Clin Psychopharmacol*, 12(3):7-14.
- Willner P, Mascal R, Papp M, Sampson D (1991) Dopamine, depression and antidepressant drugs. In: Willner P, J Scheel Kruger (eds) *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*. New York: John Wiley & Sons Ltd, pp 387-409.
- Wilson BJ, McKinley SA, Young BJ (2000) Prolactin levels in juvenile and adult rats following acute restraint and the open field. *Physiol Behav*, 68(3):383-387.
- Wilson M, Biscardi R (1994) Sex differences in GABA benzodiazepine receptor changes and corticosterone release after acute stress in rats. *J Exp Brain Res*, 101:297-306.
- Wilson M, Biscardi R (1997) Influence of gender and brain region on neurosteroid modulation of GABA responses in rat. *Eur J Neurosci*, 9(19):1679-1691.
- Winokur G, Zimmerman M, Cadoret R (1988) Cause the bible tells me so. *Arch Gen Psychiatr*, 45:683-684.
- Worshatter D, Sheppard AC (2001) Localization of GABA(B) receptors in midbrain monoamine containing neurons in the rat. *Brain Res Bull* 56(1):1-5.
- Wu H, Rudkals M (1997) Acute effects of triazolam in woman: relationships with progesterone, estradiol and allopregnanolone. *Psychopharmacology*, 130:69-78.

- Wood RL, Newman SW (1999) Androgen receptor immunoreactivity in the male and female Syrian hamster brain. *J Neurobiol*, 211:1278-1284
- Wu ES, Gibbs TL, Early DJ (1991) Pregnenolone sulfate: a positive allosteric modulator at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Mol Pharmacol*, 40(3):333-336
- Yadin E, Thomas F (1981) Septal correlates of conditioned inhibition and excitation in rats. *J Comp Physiol Psychol*, 95(2):331-334
- Yadin E, Thomas F, Gorska HL, Strickland CF (1993) The role of the lateral septum in anxiety. *Physiol Behav*, 53(6):1077-1083
- Zimmerberg B, Blaskey TG (1998) Prenatal stress effects are partially ameliorated by prenatal administration of the neurosteroid allopregnanolone. *Pharmacol Biochem Behav*, 59(4):819-827
- Zimmerberg B, Farley MJ (1993) Sex differences in anxiety behavior in rats: role of gonadal hormones. *Physiol Behav*, 54:1119-1124