



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**PARTICIPACIÓN DE RECEPTORES  $\alpha$ -2  
ADRENÉRGICOS Y RECEPTORES A  
ESTRÓGENOS EN EL EFECTO ANTIDEPRESIVO  
DEL EE2 SOLO O COMBINADO CON DMI**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**NELLY MARITZA VEGA RIVERA**



**MÉXICO, D.F. EXAMENES PROFESIONALES ENERO 2006**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

M 351984



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).

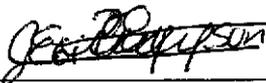
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

JURADO ASIGNADO

Presidente	Profa. Rafael Rion Arriola
Vocal	Profa. Maria Eva González Trujano
Secretario	Profa. Erika Monserrat Estrada Camarena
1er. Suplente	Profa. Maria Elena Bravo Gómez
2do. Suplente	Profa. Ruth Bustamante García

Laboratorio de Farmacología Conductual, División de Neurociencias.  
Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz".

Asesora del tema:



Dra. Erika Monserrat Estrada Camarena

Sustentante



Nelly Maritza Vega Rivera

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

NOMBRE: Vega Rivera Nelly  
Maritza

FECHA: 14 Diciembre 2005

FIRMA: 

DEDICATORIAS:

A mis padres, José Leonardo Vega y Magdalena Rivera  
por todo su apoyo, cariño y confianza que me han brindado.

Gracias por estar a mi lado.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra Erika M. Estrada Camarena por brindarme todo su amistad, apoyo y confianza incondicional. Gracias por creer en mí.

A la Dra. Lucia Martínez Mota, por todos los comentarios y consejos aportados en la elaboración de este trabajo, y en especial por su amistad y confianza.

A los miembros de mi jurado por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis y por las valiosas observaciones que hicieron para mejorarlo

Al Químico José Juan Cruz Martínez por su apoyo y amistad.

Al Biólogo Rosendo del Ángel por su apoyo en la parte experimental de este trabajo.

Al Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz" por todos los recursos y facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

## INDICE DE ABREVIATURAS

NA = noradrenalina

5-HT = serotonina

DA = dopamina

E2 = 17- $\beta$  estradiol

EE2 = etinil-estradiol

DES = dietil-estilbrestrol

IRNA = inhibidores de la recaptura de NA

IRSR = inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT

DMI = desipramina

RE = receptores a estrógenos

MAO = enzima monoamino oxidasa

COMT = enzima catecol-O-metiltransferasa

MHPG = 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol

IMAOs = Inhibidores de la monoamino oxidasa

SERT = transportador de 5-HT

SNC = sistema nervioso central

## **INDICE**

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
1.1. Depresión	<b>3</b>
1.2. Hipótesis monoaminérgica	<b>4</b>
1.3. Noradrenalina y depresión	<b>4</b>
1.3.1. Noradrenalina	<b>5</b>
1.3.1. Receptores noradrenérgicos	<b>8</b>
1.3.3. El papel del sistema noradrenérgico en la depresión	<b>8</b>
1.4. Terapias Farmacológicas Antidepresivas	<b>9</b>
1.4.1. Antidepresivos clásicos	<b>10</b>
1.4.2. Fármacos de la segunda generación	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO II</b>	
2.1. Modelos animales de trastornos psiquiátricos: criterios de validez	<b>15</b>
2.2. Modelos animales de depresión	<b>16</b>
2.2.1. Prueba de nado forzado (FST, por sus siglas en ingles)	<b>17</b>
<b>CAPÍTULO III</b>	
3.1. Estrógenos	<b>19</b>
3.1.1. Receptores a estrógenos	<b>21</b>
3.1.2. Etilnil estradiol (EE2)	<b>23</b>
3.2. Participación de los estrógenos en la depresión	<b>24</b>
3.3. Interacción sistema noradrenérgico-estrógenos	<b>25</b>
<b>CAPÍTULO IV</b>	
4.1. Planteamiento del problema	<b>28</b>
4.2. Hipótesis	<b>28</b>
4.3. Objetivos	<b>28</b>

4.3.1. Objetivo general	28
4.3.2. Objetivos particulares	29
<b>CAPÍTULO V</b>	
5.1. Animales	30
5.2. Procedimientos Quirúrgicos	30
5.2.1. Ovariectomía (OVX)	30
5.2.2. Cirugía estereotáxica	30
5.3. Actividad ambulatoria	31
5.4. Prueba de nado forzado	32
5.5. Obtención y selección de cortes	32
5.6. Fármacos	33
5.7. Series experimentales	34
5.8. Análisis estadístico	37
<b>CAPÍTULO VI</b>	38
6.0. Resultados	38
6.1. Participación del receptor $\alpha_2$ - adrenérgico en el efecto antidepresivo de EE2	38
6.2. Cortes cerebrales	40
6.3. Efecto del antagonista a receptores a estrógenos, ICI 182, 780, sobre la acción antidepresiva inducida por EE2	42
6.4. Efecto del antagonista al receptor $\alpha_2$ -adrenérgico, Idazoxan, sobre el efecto antidepresivo de DMI	43
6.5. Efecto del antagonista al receptor $\alpha_2$ -adrenérgico, Idazoxan, en el efecto antidepresivo inducido por la combinación de EE2 y DMI	46
6.6. Efecto del antagonista al receptor a estrógenos, ICI 182,780, en el efecto antidepresivo inducido por la combinación de EE2 y DMI	47

<b>CAPÍTULO VII</b>	
7.0. DISCUSIÓN	<b>49</b>
<b>CAPÍTULO VIII</b>	
CONCLUSIONES	<b>54</b>
PERSPECTIVAS	<b>55</b>
<b>CAPÍTULO IX</b>	
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	<b>56</b>

## INDICE DE ABREVIATURAS

NA = noradrenalina

5-HT = serotonina

DA = dopamina

E2 = 17- $\beta$  estradiol

EE2 = etinil-estradiol

DES = dietil-estilbrestrol

IRNA = inhibidores de la recaptura de NA

IRSR = inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT

DMI = desipramina

RE = receptores a estrógenos

MAO = enzima monoamino oxidasa

COMT = enzima catecol-O-metiltransferasa

MHPG = 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol

IMAOs = Inhibidores de la monoamino oxidasa

SERT = transportador de 5-HT

SNC = sistema nervioso central

## INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno del estado de ánimo caracterizado por sentimientos de tristeza, desesperanza y abandono. Estos sentimientos son respuesta a una variedad de factores biológicos, genéticos y psicosociales que en conjunto aumentan la vulnerabilidad del individuo a padecer la enfermedad (Carrasco y col, 2002). A nivel mundial, se ha reportado que un 18% de la población sufre de algún trastorno depresivo, siendo las mujeres quienes más padecen esta enfermedad, ya que por cada hombre hay 2 mujeres que la sufren (Nemeroff, 1998). La diferente proporción entre hombre y mujeres sugiere que las hormonas gonadales inciden en la frecuencia con que esta enfermedad se presenta en el humano; por ello, las investigaciones clínicas y básicas se han enfocado en determinar la participación de las hormonas, principalmente de estrógenos, en los trastornos afectivos. Esto último debido a que se ha encontrado que la depresión en mujeres ocurre, frecuentemente, en periodos de perturbación hormonal tales como ciclos menstruales, períodos post-parto y menopausia (Hendrick y col, 1998; Halbreich y col, 1986).

Se ha propuesto que los estrógenos, tales como el 17- $\beta$  estradiol (E2) y el etinil-estradiol (EE2) tienen la capacidad de inducir un efecto similar al que provocan los antidepresivos en la prueba de nado forzado (Estrada Camarena y col, 2003), un modelo animal que permite el estudio de fármacos con potencia antidepresiva. Posiblemente estas acciones de los estrógenos se deban a su interacción con diversos sistemas de neurotransmisión, tales como el de la

noradrenalina (NA) y la serotonina (5-HT)(Estrada Camarena y col, 2003). Esta sugerencia se sustenta en que los estrógenos E2, EE2 y dietil-estilbrestrol (DES) facilitan el efecto antidepresivo de fármacos inhibidores de la recaptura de NA (IRNA) e inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (IRSR) en la prueba de nado forzado.

En relación al efecto antidepresivo inducido por el EE2 en el modelo de nado forzado, se ha encontrado que éste se caracteriza por disminución de la inmovilidad, una conducta que refleja desesperanza, y por aumento tanto en la conducta de escalamiento como de nado (Estrada-Camarena y col, 2003), dos conductas que indican activación de los sistemas de neurotransmisión de NA y 5-HT (Detke y col, 1995). Este perfil conductual es similar al que inducen los inhibidores mixtos de la recaptura de NA y 5-HT, como la duloxetina y la venlafaxina (Rénérick y Lucki, 1998; Connor y col, 2000). Con estas bases, se ha sugerido que en el mecanismo de acción antidepresivo de EE2 participan tanto el sistema serotoninérgico como el noradrenérgico (Estrada-Camarena y col, 2003). Así, uno de los objetivos del presente estudio es explorar la posible participación de los receptores adrenérgicos- $\alpha_2$  como mediadores del efecto antidepresivo de EE<sub>2</sub> en la prueba de nado forzado, sólo o combinado con un inhibidor de la recaptura de NA, la desipramina (DMI). Dado que EE2 tiene afinidad por los receptores a estrógenos (RE), otro objetivo de este estudio fue analizar la participación de estos receptores en el efecto antidepresivo de EE2.

## **CAPÍTULO I**

### **1.1. Depresión**

La depresión es una alteración del estado de ánimo experimentado por muchas personas en una o varias etapas de su vida. Según el Manual de Diagnóstico y Estadístico de Desórdenes Mentales (DSM-IV), la depresión se caracteriza por la presencia de sentimientos de tristeza, desesperanza o abandono, que suelen ser acompañados por a) síntomas cognitivos como: pérdida de interés, dificultades de concentración, baja autoestima, culpa, ideas suicidas; b) conductuales, tales como: retraso o agitación psicomotora, retraimiento, tendencia al llanto; y c) somáticos, como son: trastornos del sueño (insomnio o hipersomnias), aumento o disminución del apetito, pérdida o aumento de peso, fatiga, disminución de la libido, entre otros.

Existen varias formas de definir la depresión, pero Stahl y col. (2000) mencionan que la depresión es un estado afectivo de tristeza que se presenta como respuesta a una variedad de factores biológicos, genéticos y psicosociales, que aumentan la vulnerabilidad del individuo a presentar síntomas depresivos. Incluso, se ha propuesto que tales factores pueden incidir sobre personas previamente vulnerable, provocando la aparición de la sintomatología clínica (Carrasco y col, 2002).

Los estudios epidemiológicos muestran que este desorden afectivo se ha convertido en uno de los trastornos mentales más frecuentes en la población mundial, reconociéndose como un problema de salud pública que afecta a un

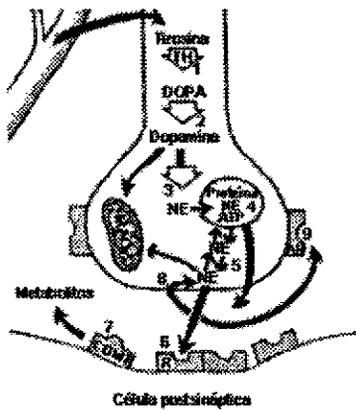
12% de la población mexicana, siendo las mujeres quienes más padecen esta enfermedad, en una relación de 2:1 respecto a los hombres (Caraveo-Anduanga y cols., 1999).

## **1.2 Hipótesis monoaminérgica**

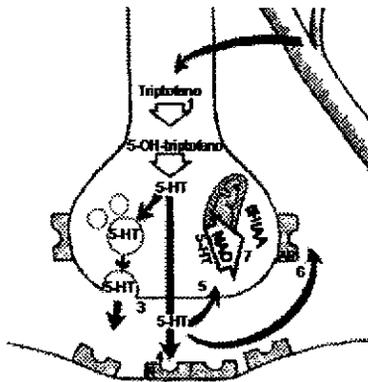
La primera teoría del siglo XX sobre la etiología de la depresión fue que la depresión era consecuencia de una deficiencia de los neurotransmisores monoaminérgicos NA (figura 1), 5-HT (figura 2) y DA. Esta se propuso a principios de los años 50s, con la observación de que un 15% de pacientes con hipertensión, que fueron tratados con reserpina (antihipertensivo), mostraban algunos síntomas depresivos. La reserpina causa disminución de las monoaminas, por lo que los síntomas de depresión fueron asociados a este cambio en el contenido de 5-HT y NA (Nemeroff, 1998).

En la actualidad se sabe que la depresión tiene una etiología compleja y que no sólo las monoaminas están involucradas en la neurobiología de este padecimiento, ya que también es modulado por cambios en el sistema GABAérgico y glutamatérgico, entre otros.

Además de su valor histórico, la hipótesis monoaminérgica llevó a la síntesis de fármacos antidepresivos que aún son utilizados y tienen como blanco a los sistemas de monoaminas cerebrales.



**Figura 1.** Sinápsis noradrenérgica. El neurotransmisor proviene de la conversión del aminoácido precursor, la tirosina, a través de varios pasos enzimáticos, hasta NA: la tirosina-hidroxilasa (TH) convierte la tirosina en DOPA (1); la DOPA-descarboxilasa la convierte en DA (2), y la dopamina-β-hidroxilasa en Na (3). Ésta puede almacenarse junto con otras proteínas sinápticas y con ATP (4) para de allí liberarse, directa o indirectamente (5). Una vez liberado, el neurotransmisor puede ocupar receptores postsinápticos (6), metabolizarse por la MAO y por la catecol -O-metiltransferasa (7), recapturarse para su eventual reutilización (8) u ocupar auto-receptores (9). Modificado de Feldman y col, 1997.



**Figura 2.** Sinápsis serotoninérgica. La 5-HT (5-hidroxitriptamina) (5-HT) se sintetiza a partir del triptófano, el cual se convierte en 5-hidroxitriptófano por la enzima triptófano-hidroxilasa. La 5-HT puede almacenarse en vesículas (2) y/o liberarse (3). Una vez liberada, puede ocupar receptores postsinápticos (4), recapturarse (5), ocupar auto-receptores (6) o metabolizarse por la MAO mitocondrial (7) hacia ácido 5-hidroxiindolacético (SHIAA). Modificado de Feldman y col, 1997.

### 1.3 Noradrenalina y depresión

#### 1.3.1 Noradrenalina (NA)

La NA es el neurotransmisor de la mayor parte de las fibras simpáticas posganglionares y de muchas neuronas centrales, por ejemplo, en el *locus coeruleus* y el hipotálamo. Esta catecolamina se deriva de la tirosina, un aminoácido que primero es convertido a dopamina por la dopa-descarboxilasa, para después ser hidroxilada por la dopamina β-hidroxilasa a NA (figura 3). Una

vez sintetizada la NA, se almacena en las terminales nerviosas dentro de vesículas, para después ser liberada desde la vesícula hacia la hendidura sináptica por exocitosis. Así, una vez liberada la NA, algunas moléculas se difundirán en la hendidura sináptica, para unirse a sus receptores post-sinápticos y activarlos, induciendo de esta manera una respuesta fisiológica. Otras moléculas de NA pueden ocupar autoreceptores, recapturarse por el transportador en neuronas presinápticas para ser almacenadas nuevamente o ser metabolizada por la enzima monoamino oxidasa (MAO) y por la catecol-O-metiltransferasa (COMT), dos enzimas localizadas principalmente en las mitocondrias de las neuronas presinápticas y fuera de las terminales nerviosas presinápticas, respectivamente y encargadas de regular los niveles intraneurales de NA (figura 1).

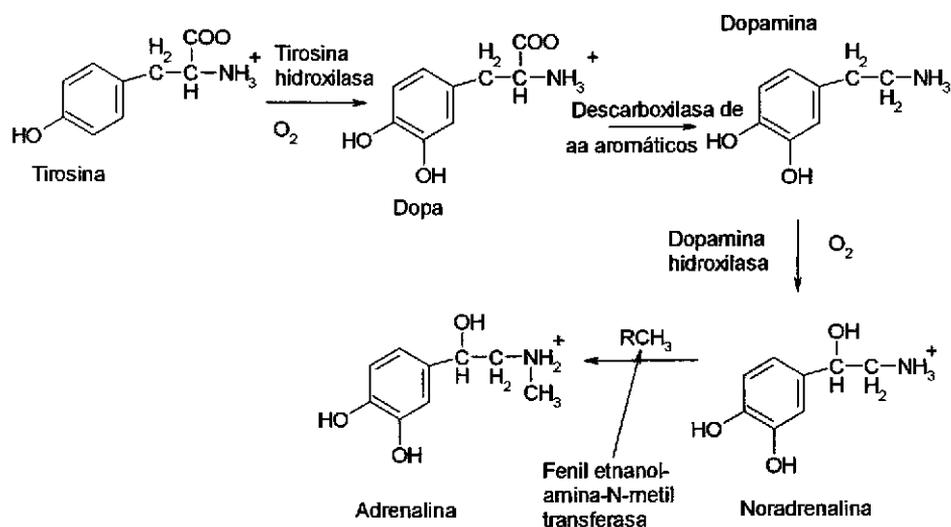


Figura 3. Síntesis del neurotransmisor NA a partir del aminoácido tirosina.

Los grupos celulares y las fibras que contienen NA se originan en el *locus coeruleus*, y otras áreas noradrenérgicas inferiores tales como el núcleo del tracto solitario o los núcleos reticulares laterales, desde donde surgen dos grandes fascículos de proyección ascendente: el fascículo noradrenérgico dorsal y el fascículo noradrenérgico ventral. Ambos fascículos tienen una implicación en el nivel de actividad córtico-subcortical, principalmente en sus conexiones con el sistema límbico (hipocampo, amígdala y septum) y el diencefalo (tálamo e hipotálamo). Así mismo, las fibras noradrenérgicas proyectan descendentemente a la formación reticular de la médula espinal o núcleos cercanos al tracto solitario, al complejo dorsal del nervio vago y nervios motores primarios (figura 4) (Holmes y Crawley, 1995).

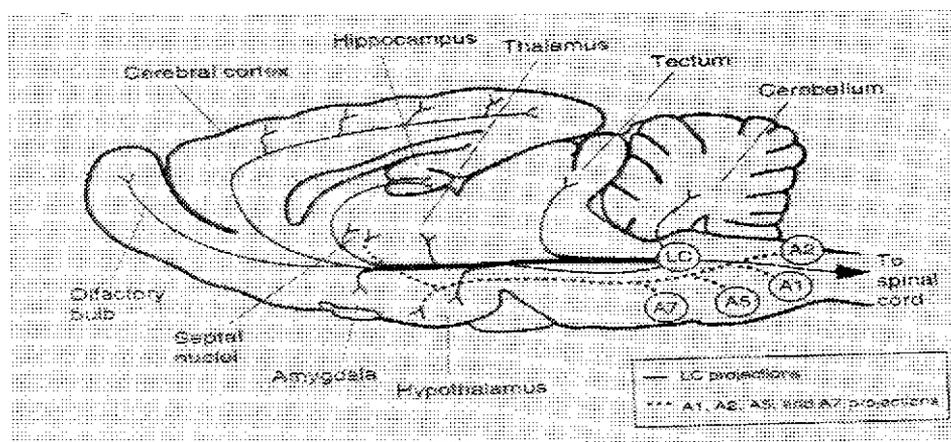


Figura 4. Núcleos noradrenérgicos y sus proyecciones en el cerebro de la ratona. Tomado de Holmes y Crawley, 1995. Las líneas continuas indican las proyecciones del locus coeruleus (LC) hacia corteza y estructuras sub-corticales. Las líneas punteadas indican la proyección de los grupos celulares A1, A2, A5 y A7 a estructuras sub-corticales y médula espinal.

### 1.3.2 Receptores noradrenérgicos

Como consecuencia del desarrollo de agonistas y antagonistas específicos a catecolaminas se ha podido establecer la existencia de varios subtipos de receptores adrenérgicos (adrenoreceptores). Tradicionalmente se les ha dividido en dos familias: los  $\alpha$  y  $\beta$ - adrenérgicos. La familia de receptores  $\alpha$  es subdividida en  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  y  $\alpha_{1D}$ , y están localizados post-sinápticamente; y los  $\alpha_2$  que se subdividen  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$  y  $\alpha_{2D}$ , se encuentran localizados en la pre-sinapsis y en la post-sinapsis. En cuanto a la familia de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos se conocen tres sub-tipos,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$ , localizados en la post-sinapsis (Feldman, 1997; Stahl, 2000).

### 1.3.3 El papel del Sistema Noradrenérgico en la depresión

Por muchos años el tratamiento de la depresión fue enfocado en el neurotransmisor 5-HT, sin embargo, se sabe que tanto el sistema noradrenérgico como el sistema serotoninérgico se encuentran involucrados en la patogénesis y el tratamiento de la depresión. La respuesta noradrenérgica está íntimamente ligada al estrés: al inicio un estresor provoca incremento de la liberación de NA y de la frecuencia de disparo del *locus coeruleus*; cuando el estrés es constante, como las presiones de la vida cotidiana, el tono NA disminuye notablemente, y pueden generar depresión clínica. Estos eventos sugieren que los síntomas depresivos se ven aumentados debido a un agotamiento de la NA en ciertas regiones del cerebro, tales como: el *locus coeruleus* y el área tegmental lateral (Glavin, 1985)

Algunas evidencias clínicas soportan la participación de la NA en la depresión. Se ha monitoreado, en pacientes deprimidos, que el metabolito de la noradrenalina (NA), 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG), se encuentra considerablemente bajo en comparación con individuos sanos (Meana y col, 1992). Así también, se observa una respuesta similar en el plasma de pacientes deprimidos a los cuales les fue administrado  $\alpha$ -metil-p-tirosina, un inhibidor de la enzima tirosina-hidroxilasa (Miller y col, 1996). Otro hecho relacionado es que pacientes depresivos que mantenían tratamiento con fármacos antidepresivos que inhiben la recaptura de NA, al ser tratados con  $\alpha$ -metil-p-tirosina reaparecían los síntomas depresivos presentados antes del tratamiento, en cambio, los pacientes que mantenían un tratamiento con fármacos que inhiben la recaptura de 5-HT no presentaban recaída alguna (Miller y col, 1996).

#### **1.4. Terapias Farmacológicas Antidepresivas**

Los primeros descubrimientos de los antidepresivos fueron llevados a cabo a finales de los años cincuentas, cuando de manera casual se observó que la iproniazida, un fármaco usado en el tratamiento de la tuberculosis, mejoraba el estado de ánimo de los pacientes. Más tarde, se determinó que estos fármacos actuaban inhibiendo a la enzima MAO, cuya función es degradar a los neurotransmisores NA, 5-HT, dopamina por desaminación oxidativa, regulando de esta manera los niveles de los neurotransmisores (Stahl, 1998; Stahl, 2000, Vetulani y Nalepa, 2000). Estos hallazgos llevaron a la síntesis y desarrollo de

más fármacos que ayudaran a este tipo de patologías, cuyo mecanismo de acción fuera la inhibición de la MAO, pero que carecieran de propiedades no deseadas.

#### **1.4.1. Antidepresivos clásicos**

##### **Inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAOs)**

Los IMAOs son fármacos que facilitan la transmisión monoaminérgica mediante el bloqueo del catabolismo de ciertas aminas biogénicas (*vide supra*), incrementando de esta manera la cantidad de neurotransmisor disponible para la liberación sináptica (Ventulani y Nalepa, 2000; Carrasco y col, 2002).

Existen dos tipos de IMAOs: los clásicos, que van a actuar sobre la enzima MAO de manera irreversible, e inhiben de manera no selectiva las dos isoformas de la MAO: la isoenzima tipo A, que desamina 5-HT, NA, epinefrina, normetaepinefrina y DA; así como a la tipo B, que desamina a DA, tiramina y feniletilamina. A este grupo de fármacos pertenecen la fenilezina, nialamida, iproniazida, isocarboxasida, entre otros (Stahl, 1998; Stahl, 2000).

El otro grupo de fármacos IMAOs son los selectivos, que actúan de manera reversible inhibiendo a la isoenzima A o la B según sea el caso. Entre los IMAOs A tenemos a la amiflamina, la moclobemida, la clorgilina, mientras que en el grupo de los IMAOs B se encuentran deprenil y caroxazona (Stahl, 1998; Stahl, 2000). Su selectividad y el hecho que sean reversibles los hace más seguros que los IMAOs más inespecíficos.

## **Antidepresivos tricíclicos**

Los antidepresivos tricíclicos son llamados así debido a que su estructura química orgánica esta conformada por tres anillos (figura 5). Estos fármacos, en primera instancia, fueron sintetizados para el tratamiento de la esquizofrenia; sin embargo, durante el periodo de prueba se descubrió que actuaban como antidepresivos, quedando etiquetados desde entonces como medicamentos para el tratamiento de la depresión.

En primer lugar, se observó que los tricíclicos actuaban inhibiendo la recaptura de NA, 5-HT o ambas aminas, sin embargo, se sabe que además bloquean a receptores colinérgicos de tipo muscarínico, y a los histaminérgicos, produciendo por lo tanto efectos colaterales importantes (Stahl, 1998; Wallace, 2003). En general, los antidepresivos tricíclicos potencian las acciones de las aminas biogénicas al bloquear sus medios principales de inactivación fisiológica, como son el transporte o la recaptura en las terminaciones nerviosas. Los compuestos tricíclicos amino terciarios, tales como imipramina y amitriptilina, además de bloquear la recaptura de NA, muestran una pequeña especificidad en el bloqueo de la recaptura de 5-HT (Feldman y col, 1997). Estos antidepresivos son los más accesibles en la clínica; sin embargo, producen una serie de efectos colaterales como somnolencia, estreñimiento, problemas estomacales y cardiacos, los cuales los hace poco recomendados.

## Desipramina (DMI)

Otro tipo de antidepresivos tricíclicos son los congéneres de la imipramina (o sus metabolitos N-desmetilados), como DMI y nortriptilina, que inhiben potente y selectivamente la recaptura de NA (Feldman y col, 1997). El aumento del tono noradrenérgico en la sinapsis, lleva, en mediano plazo, a la desensibilización de auto- y hetero-receptores adrenérgicos, entre los que se encuentran los  $\alpha$ 2-adrenérgicos, los cuales regulan la liberación de NA en las neuronas de estructuras como *locus coeruleus*, hipocampo, entre otras (Spyraky y col, 1980).

La DMI es un antidepresivo que aún es utilizado en la práctica clínica como tratamiento para la depresión, la ansiedad generalizada y el ataque de pánico. En la experimentación básica constituye una excelente herramienta para producir efecto antidepresivo mediado por el sistema noradrenérgico, por lo que permite la investigación de los elementos de este sistema (receptores, enzimas, segundos mensajeros) que participan en la depresión.

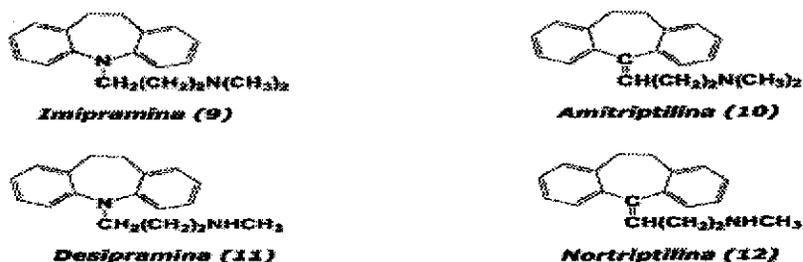


Figura 5. Estructura química de algunos antidepresivos tricíclicos que inhiben la recaptura de 5-HT y NA.  
Modificado de Stahl, 1998.

## **1.4.2. Fármacos de la segunda generación**

### **Inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (ISRS)**

Los ISRS son los agentes antidepresivos utilizados con mayor frecuencia en la actualidad, debido a que producen menores efectos adversos comparados con los producidos por los IMAOs y los tricíclicos (Stahl, 1998). Este grupo de fármacos, representados por fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina y citalopram actúan bloqueando al transportador de 5-HT (SERT, por sus siglas en inglés) causando de esta manera un repentino incremento de los niveles de 5-HT en el área somadendrítica (figura 2). Este substancial incremento de serotonina provoca una desensibilización de los auto-receptores 5-HT<sub>1A</sub>, facilitando de esta manera la liberación de 5-HT en terminales sinápticas (Stahl, 1998).

### **Inhibidores de la recaptura de NA (ISRNA)**

#### **Bupropión**

Es el único antidepresivo que excluye al sistema serotoninérgico y actúa selectivamente sobre la recaptura de NA y DA. Farmacológicamente se sugiere que el bupropión tiene acciones en áreas donde existen deficiencias de NA y DA (Stahl, 1998).

## **Venlafaxina**

La farmacología de la venlafaxina en los diferentes sistemas de neurotransmisión de monoaminas es dosis dependiente, es decir, a dosis bajas inhibe la recaptura de 5-HT, mientras que a dosis medias inhibe la recaptura de NA y a dosis elevadas, la recaptura de DA (Stahl, 1998).

## **CAPÍTULO II**

### **2.1. Modelos animales de trastornos psiquiátricos: criterios de validez.**

Con el propósito de predecir la eficacia de tratamientos terapéuticos, desarrollar nuevos fármacos, así como conocer los mecanismos de acción de estos, surgió la necesidad de desarrollar modelos animales en los cuales se pudieran cumplir todas estas expectativas, ya que esto no podía realizarse en humanos.

Según Mark A. Geyer (1995), un modelo animal es definido como una preparación experimental desarrollada con el propósito de estudiar alguna condición, en una o varias especies, estableciendo una homología entre la conducta del animal afectado y el síndrome a modelar. En el caso de investigaciones en psicofarmacología, los modelos animales se basan en alteraciones conductuales inducidas por eventos estresantes, químicos o quirúrgicos. Estos cambios conductuales van acompañados de alteraciones bioquímicas, por ejemplo, activación del eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal (HHA) en modelos de depresión, que en conjunto remedan a la sintomatología del desorden que se desea modelar (Porsolt y col, 1992).

Según Willner (1994), los criterios que permiten la validación de un modelo animal como un herramienta útil para investigar el efecto de fármacos psicoactivos así como los sustratos neurobiológicos que participan en la depresión son: a) validez predictiva; b) validez de apariencia; c) validez hipotética o de constructo

hipotético. El criterio de validez predictiva es definido como la habilidad de una prueba para predecir un efecto o una respuesta, por ejemplo, el efecto antidepresivo de nuevos fármacos; la validez de apariencia se refiere a la similitud fenomenológica entre el modelo y el desorden modelado; la validez constructiva establece que las hipótesis que explican un trastorno psiquiátrico también deben servir como fundamento al modelo.

Con base en estos criterios un modelo animal de depresión deberá ser aquel que por lo menos detecte el potencial antidepresivo de nuevos fármacos y simule algunos síntomas de la depresión, por ejemplo, la desesperanza o la anhedonia.

## **2.2. Modelos animales de depresión**

Con el propósito de evaluar mecanismos de acción y propiedades de fármacos antidepresivos y de estudiar los elementos neurofisiológicos que subyacen a los trastornos depresivos, se han desarrollado modelos animales sensibles a fármacos antidepresivos, y que en ciertas circunstancias también permiten remedar los síntomas de la depresión que sufren los pacientes deprimidos. Entre estos modelos podemos mencionar a la prueba de nado forzado, de suspensión del rabo y la desesperanza aprendida, como modelos de depresión inducida por estrés; la bulbectomía, como un modelo de depresión inducida por la extirpación del bulbo olfatorio, y los modelos farmacológicos que

generan depresión por la inyección de reserpina, clorimipramina (neonatalmente) y de abstinencia a las anfetaminas (Geyer y col, 1995).

### **2.2.1 Prueba de nado forzado (FST, por sus siglas en inglés)**

La FST es un modelo de depresión en roedores. En este modelo, las ratas son forzadas a nadar en un espacio restringido e inescapable, de tal forma que se enfrentan a una situación estresante y carente de solución, que las conducirá a que progresivamente abandonen los esfuerzos por escapar. Este abandono se manifiesta en la sesión de prueba, 24h después de una primera sesión de nado forzado (pre-prueba), por la postura de inmovilidad, que definimos como los movimientos mínimos del animal con los que se mantiene a flote, con la cabeza fuera del agua. Se ha propuesto que esta conducta de inmovilidad refleja un estado de desesperanza o abandono análogo al que muestra un individuo deprimido (Porsolt y col, 1977); por tanto, este modelo cumple con el criterio de validez de apariencia. De manera paralela a la conducta de inmovilidad, los roedores desarrollan una serie de conductas activas, como son el nado (movimientos suaves que le permiten desplazarse alrededor del estanque) y el escalamiento (movimientos rigurosos dirigidos hacia la pared del estanque), las cuales son consideradas como intentos que realiza el animal para salir de la situación a la que se enfrenta (Detke y col, 1995; Lucki, 1997) y que podrían reflejar un estado de motivación.

Además de ser propuesta como un modelo de depresión, la FST sirve para predecir y evaluar la eficacia de los fármacos antidepressivos, cumpliendo así con

el criterio de validez predictiva. Los antidepresivos administrados entre el periodo de pre-prueba y prueba, disminuyen la inmovilidad, interpretado como disminución de la desesperanza, y aumentan las conductas activas, es decir, la motivación. Se ha reportado que dependiendo del sistema de neurotransmisión involucrado en el mecanismo de acción del antidepresivo es posible observar diferencias en la expresión de las conductas activas (Detke y col, 1995). De tal manera se considera que fármacos antidepresivos que disminuyen la inmovilidad a expensas de un aumento en la conducta de escalamiento en la FST, actúan sobre el sistema noradrenérgico. En contraste, antidepresivos cuyo mecanismo de acción esta mediado por el sistema serotoninérgico presentan disminución de la inmovilidad e incremento en la conducta de nado (Detke y col, 1995)

## CAPITULO III

### 3.1. Estrógenos

Fisiológicamente, los estrógenos, estrona y 17- $\beta$  estradiol son los esteroides foliculares más importantes, siendo más potente el estradiol seguido por estrona y estriol. Cada una de estas moléculas es un esteroide de 18 carbonos que contiene un anillo fenólico A (anillo aromático con un grupo hidroxilo en el carbono 3), y un grupo  $\beta$ -hidroxilo o cetona en la posición 17 del anillo D (figura 6). El anillo fenólico A es la principal característica estructural, de la cual depende la unión selectiva y de alta afinidad a receptores de estrógenos (Jordan y col, 1985; Williams y Stancel, 1996).

Los estrógenos son hormonas esteroidales sintetizadas a partir de androstenediona o testosterona, como precursores inmediatos. Esta reacción, que es catalizada en tres pasos por un complejo de enzima monooxigenasa (aromatasa) y que utiliza la forma reducida del NADPH y oxígeno molecular como sustrato, comprende la aromatización del anillo A, la cuál es llevada a cabo por una serie de hidroxilaciones tanto del carbono 19 (C19) como del carbono 2 (C2) (figura 7).

En condiciones normales, los ovarios constituyen la principal fuente de estrógenos. Siendo el principal producto el estradiol, es cual es sintetizado por células de la granulosa a partir de precursores proporcionados por células de la teca. Una vez secretado, el estradiol puede oxidarse de manera reversible hasta

generar estrona, mediante la 17-hidroxisteroide deshidrogenasa, y esos dos estrógenos convertirse en estriol. Los tres estrógenos son excretados en la orina junto con glucurónidos y fosfatos conjugados.

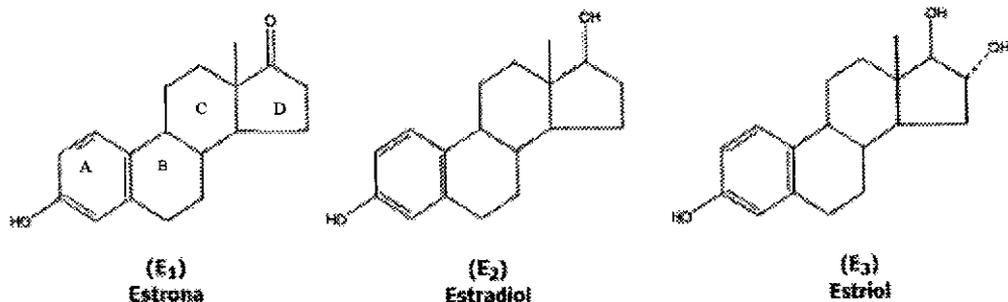


Figura 6. Estructura química de los estrógenos foliculares más importantes.

En general, los estrógenos producen una amplia gama de efectos en todo el cuerpo, incluyendo el sistema nervioso central (SNC). Son los responsables de los cambios que tienen lugar durante la pubertad en niñas. Mediante un efecto directo sobre receptores a estrógenos, generan crecimiento y desarrollo de la vagina, el útero y las trompas de falopio. De igual manera contribuyen al agrandamiento de las mamas, en el moldeado de los contornos corporales, en dar forma al esqueleto y desencadenar el brote de crecimientos puberales tanto de huesos largos, como de vello axilar y púbico (Williams y Stancel, 1996). En el cerebro, los estrógenos actúan modulando la regulación de los sistemas neuroendocrinos autónomos y aquellos asociados con la reproducción (Österlund y Hurd, 2001).

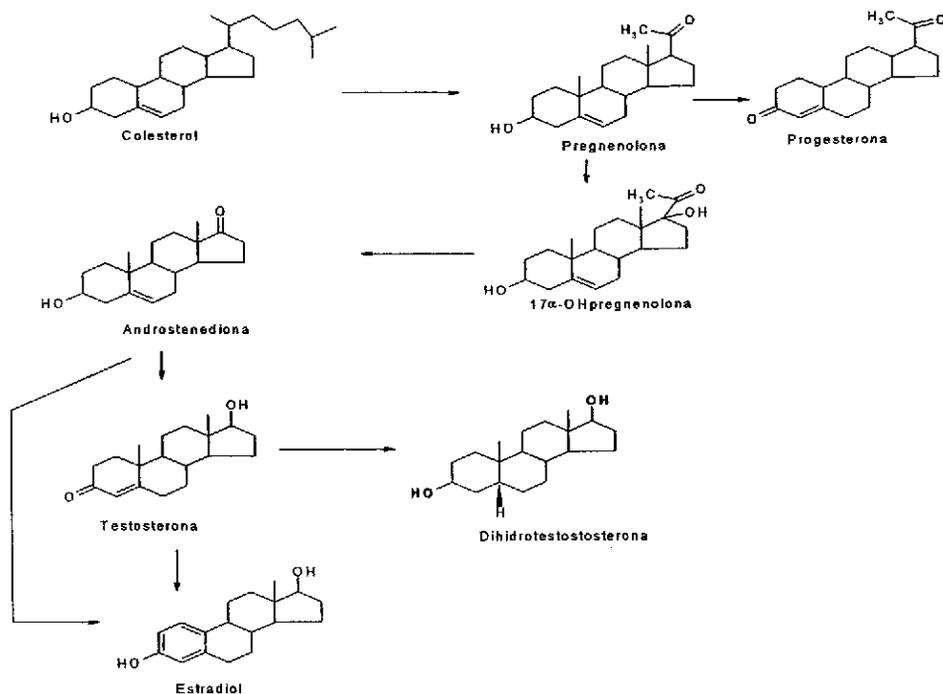


Figura 7. Síntesis de estradiol a partir del colesterol y de precursores androgénicos.

### 3.1.1. Receptores a estrógenos (RE)

Dentro de la gran variedad de acciones biológicas de las hormonas esteroidales, se distinguen cuando menos dos mecanismos de acción: el clásico o genómico y el no genómico. El mecanismo de acción genómico es mediado por la unión del estrógeno a RE intracelulares, una superfamilia de receptores nucleares que funcionan como factores de transcripción ligando-activando (Österlund y col, 1998). Aquí, una vez que el estrógeno ingresa a la célula por un mecanismo de difusión pasiva, se une a receptores citoplasmáticos, formando un dímero

receptor-hormona. Éste, es trasladado al núcleo con el fin de activar al elemento de respuesta a estrógenos localizado en el DNA, iniciando de esta manera la transcripción y síntesis de proteínas (Katzenellenbogen, 1996; Österlund y col, 1998). Las acciones estrogénicas genómicas se producen lentamente y tienen una duración larga, por lo que requieren de horas e incluso de días para ser observadas (McEwen, 2001).

Existen dos tipos de receptores intracelulares a estrógenos, los  $RE\alpha$  y los  $RE\beta$ , los cuales a pesar de guardar homología en su dominio de unión al DNA, tienen diferencias importantes en el sitio de unión a la hormona, y tales diferencias son las responsables de que posean una afinidad de unión diferente a los diversos compuestos esteroideos sintéticos (Österlund y col, 2001; McEwen, 1999). Mediciones de RNAm muestran que la distribución de  $RE\alpha$  y  $RE\beta$  en el organismo difiere notablemente. Así, los  $RE\alpha$  muestran una expresión de moderada a alta en la pituitaria, el riñón, el epidídimo y las glándulas adrenales; mientras que la expresión de los  $RE\beta$  es de moderada a alta en próstata, pulmón, vejiga y cerebro. La expresión de ambos receptores es similar tanto en ovarios, testículos y útero (McEwen, 1999).

El otro tipo de mecanismo por el cual los estrógenos ejercen su acción biológica rápidamente es el no genómico (McEwen 2001). Este mecanismo sugiere que los estrógenos pueden activar receptores de membrana acoplados a segundos mensajeros y activar cascadas de señalización intracelular como la

acoplada a la proteína cinasa A, proteína cinasa C, entre otras (McEwen, 2001). En este caso, los RE membranales aún no han sido totalmente caracterizados, sin embargo, se ha considerado que algunos de éstos tienen especificidad diferente a la que presentan los RE intracelulares por los estrógenos. Así, una porción del RE intracelular puede ser expresada en la superficie de algunas células y participar en efectos relacionados con segundos mensajeros (McEwen, 1999).

### **3.1.2. Etilil estradiol (EE2)**

La descripción de los requerimientos estructurales óptimos en una molécula para producir una acción estrogénica, fue el primer paso para descubrir compuestos no esteroidales que tuvieran propiedades estrogénicas (Jordan y col, 1985). Este interesante hallazgo permitió el desarrollo de compuestos con actividad estrogénica, tales como EE2 y DES (dietil estilbestrol). Los compuestos sintéticos esteroidales como el EE2 tienen efectos hormonales biológicos semejantes a los estrógenos ováricos naturales y han sido ampliamente utilizados en la clínica, como por ejemplo, en terapia anticonceptiva hormonal (Williams y Stancel).

El EE2, es un compuestos sintético esteroidal preparado a partir de la estrona, que difiere del 17 $\beta$ -estradiol por la presencia de un grupo etilo en el carbono 17, en la posición alfa. El EE2 es de 30 a 50 veces más potente que el E2 y es usado comúnmente como componente estrogénico de anticonceptivos (Williams y Stancel, 1996). Así también, es ampliamente utilizado en tratamientos

de restitución hormonal en mujeres menopáusicas y post-menopáusicas. El uso de este compuesto sintético esteroidal es seguro debido a la rápida velocidad que tiene para metabolizarse (Sojo-Aranda, 1990; Guengerich, 1990).

### **3.2. Participación de los estrógenos en la depresión**

Diferentes investigaciones indican que los estrógenos pueden actuar en el abatimiento de los síntomas depresivos asociados con los cambios endocrinos por los que atraviesa la mujer a lo largo de su vida, tales como ciclos menstruales, periodo post-parto y menopausia. Por ejemplo, se ha reportado una disminución de síntomas depresivos en mujeres con síndrome premenstrual y posmenopáusicas después de una restitución hormonal con estrógenos (Hendrick y col, 1998; Halbreich y col, 1986).

Así mismo, en la investigación básica se ha sugerido la participación de los estrógenos en la depresión experimental. Galea y col. (2001), utilizando un modelo de depresión post-parto mostraron que el retiro de las hormonas estradiol y progesterona produce una sintomatología semejante a la depresión, medida en el modelo de nado forzado. Este efecto puede revertirse con la administración crónica de estradiol (27 días). Resultados semejantes se han encontrado con otros esquemas de administración en diferentes modelos de depresión como el de suspensión de la cola (Bernardi y col, 1989) y el de desesperanza aprendida. Recientemente, se reportó que el efecto antidepresivo de compuestos estrogénicos puede variar dependiendo del compuesto utilizado; así se encontró

que el E2 y el EE2 disminuyen la desesperanza conductual en el FST de manera similar al efecto que producen los fármacos antidepresivos (Estrada-Camarena y col, 2003; Rachman y cols, 1998). Sin embargo, otros compuestos estrogénicos, como el DES y agonistas al RE $\alpha$  no inducen efectos antidepresivos en el mismo modelo (Estrada-Camarena y col, 2003; Walf y col, 2004).

En la FST, el E2 produce efecto antidepresivo por aumento de la conducta de nado aunado a la disminución de la conducta de inmovilidad, en tanto que el EE2 produce disminución de la inmovilidad y aumento del nado y el escalamiento (Estrada-Camarena y col, 2003). Con base en la interpretación de las conductas activas en la FST, el perfil conductual inducido por ambos estrógenos sugiere que estos compuestos tienen diferente mecanismo de acción. Se ha propuesto que el efecto antidepresivo del E2 podría estar mediado por el sistema serotoninérgico mientras que el de EE2 podría estar mediado por el sistema noradrenérgico y el serotoninérgico, además de los receptores a estrógenos (Estrada-Camarena y col, 2003). Hasta el momento, no se ha hecho un estudio sistemático, usando antagonistas específicos a RE o a receptores a 5-HT y NA, que confirmen esta propuesta.

### **3.3. Interacción sistema noradrenérgico—estrógenos**

Una serie de investigaciones han dado pauta para indicar la participación de los estrógenos en la regulación de la neurotransmisión noradrenérgica. Se ha encontrado que la ovariectomía causa una disminución significativa de las concentraciones de NA en el hipotálamo, y que este cambio puede ser recuperado

por una administración del  $17\beta$ -estradiol (Cardinali y cols., 1997). Además, Karkanias y col. (1997), así como Wagner (1980), encontraron que el  $17\beta$ -estradiol desensibiliza al receptor pre-sináptico adrenérgico  $\alpha_2$ , sugiriendo que estos estrógenos naturales interactúan con el sistema noradrenérgico modulando la liberación de NA.

Algunos estrógenos sintéticos también modulan la actividad del sistema de NA. Así, el tratamiento crónico con benzoato de estradiol reduce la sensibilidad de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, efecto que es asociado al incremento en la secreción de catecolaminas (Carlberg y Fregly, 1986). Por su parte, Wilkinson y Hung (1982) encontraron que el DES induce cambios en el número de receptores adrenérgicos en el hipotálamo de ratas pre-púberes y ovariectomizadas: un decremento del 25 al 30% en los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos y un incremento del 60 al 100% en el número de receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Así también, el mestranol, un estrógeno sintético, produce una reducción significativa del número de adrenoceptores  $\alpha_2$ , tanto en la corteza frontal como en el núcleo del tracto solitario (Shackelford y col, 1988).

De forma interesante, los estudios conductuales demuestran que el estrógeno EE2 facilita el efecto antidepresivo de DMI, produciendo aumento de las conductas activas de nado y escalamiento (Estrada-Camarena y col, 2004). Este resultado sugiere, por un lado, que el estrógeno sintético EE2 también interactúa con el sistema noradrenérgico, y por otro lado, que independientemente de que el

DMI es un fármaco que aumenta el escalamiento por su acción sobre NA, en la combinación con EE2 con éste compuesto, prevalece el perfil conductual del tratamiento estrogénico, es decir, aumento de ambas conductas activas por cambios en los sistemas de 5-HT y NA (Estrada-Camarena y cols, 2004). Dado que los estrógenos, como el 17 $\beta$ -estradiol, actúan sobre receptores adrenérgicos (Karkanas y cols, 1997; Wagner, 1980), que son blancos de diversos tratamientos antidepresivos es posible sugerir que las acciones antidepresivas y facilitadoras del EE2 podrían estar mediadas, al menos en parte, por interacción con los receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos. Es importante señalar que hasta el momento no existen estudios que demuestren la interacción de este compuesto estrogénico con los receptores noradrenérgicos.

## **CAPITULO IV**

### **4.1. Planteamiento del problema**

El EE2 produce un efecto antidepresivo en la FST, que se propone, podría estar mediado tanto por el sistema noradrenérgico como por el serotoninérgico, además de los receptores a estrógenos (Estrada-Camarena y cols, 2003). Hasta el momento, la interacción de EE2 con el sistema de 5-HT ya ha sido explorada (Estrada-Camarena y col, 2005), en tanto que no existen estudios que analicen la interacción de este compuesto sintético esterooidal con receptores adrenérgicos específicos, en particular aquellos que son blancos de tratamientos antidepresivos. En este mismo sentido, ya que EE2 facilita el efecto del antidepresivo DMI (Estrada-Camarena y col, 2004), resulta de interés conocer el posible mecanismo que media estas acciones en la FST.

### **4.2. Hipótesis**

El efecto antidepresivo del EE2, sólo o combinado con DMI, involucra tanto a receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2 como a receptores a estrógenos.

### **4.3. Objetivos**

#### **4.3.1. Objetivo general**

- Evaluar la participación de receptores  $\alpha$ 2 adrenérgicos y receptores a estrógenos en el efecto antidepresivo del EE2 sólo o combinado con DMI.

#### 4.3.2. Objetivos particulares

- Evaluar la posible participación de receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos, así como de los receptores a estrógenos en el efecto antidepresivo de EE2.
  
- Evaluar la participación del receptor  $\alpha$ -2 adrenérgicos y del receptor a estrógenos en el efecto antidepresivo producido por la combinación de EE2 y DMI.

## **CAPITULO V**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **5.1. Animales**

Para todos los experimentos se utilizaron ratas hembras adultas, de la cepa Wistar, con un peso aproximado de 200-250 g al inicio del experimento. Las ratas fueron mantenidas en un bioterio bajo condiciones de temperatura y humedad controladas, con un ciclo de luz-oscuridad invertido (12/12 h). Todos los animales tuvieron acceso libre al agua y al alimento y fueron manipulados de acuerdo a la norma oficial mexicana para el cuidado y manejo de animales (NOM-062-ZOO-1999).

#### **5.2. Procedimientos Quirúrgicos**

##### **5.2.1. Ovariectomía (OVX)**

La ovariectomía se llevó a cabo bajo anestesia con tribromoetanol (200 mg/kg), haciendo una pequeña incisión ventral en la piel y el músculo del animal con el fin de dejar expuestos los oviductos y los ovarios. Los oviductos fueron ligados y los ovarios fueron retirados, posteriormente, se suturó al animal y se mantuvo en el bioterio, en grupos de cinco animales por caja, durante tres semanas para su total recuperación.

##### **5.2.2. Cirugía estereotáxica**

Debido a que el antagonista para los RE, ICI, 182,780, no atraviesa la barrera hematoencefálica, este fue administrado directamente en el ventrículo lateral derecho (administración intracerebroventricular ó i.c.v), bajo anestesia con

halotano (inhulado). El animal fue inmovilizado con la ayuda de un aparato estereotáxico, de tal manera que la cabeza quedara fija. Se realizó una incisión longitudinal sobre la piel del cráneo, se retiró el periostio y se procedió a perforar el hueso justo en las coordenadas señaladas para el ventrículo lateral derecho de acuerdo al atlas de Paxinos y Wstón (1997); 8.4 mm antero-posterior a lambda, 1.4 mm lateral respecto a la línea media y 3.9 mm a partir de la superficie craneal. Una vez realizado el trepano se procedió a administrar al compuesto adecuado a través de una aguja Hamilton acoplada a una bomba de microinyección (1  $\mu$ l/min), dejando la aguja dentro del ventrículo por un promedio de 3 min mas. Finalmente, se procedió a retirar la aguja, tapar el trepano con cera de hueso y suturar la piel.

### **5.3 Actividad ambulatoria**

Con el fin de descartar que una alteración motora pudiera afectar la respuesta de los animales en el modelo de nado forzado, se procedió a evaluar la actividad ambulatoria. Para ello, antes de la prueba de nado forzado, las ratas fueron colocadas individualmente, por un periodo de 5 minutos, dentro de una caja de acrílico (40 x 20 x 50 cm), cuyo piso estaba dividido en cuadros de 12 X 12 y en donde las ratas podían caminar libremente. Durante 5 minutos se contabilizó el número de cuadros que el animal cruzaba, para ser promediados y expresados como media  $\pm$  error estándar.

#### **5.4. Prueba de nado forzado**

Esta prueba consiste en colocar a una rata en un cilindro individual (46 cm de altura x 20 cm de diámetro) que contiene aproximadamente 30 cm de agua a temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . La prueba consta de dos sesiones; la primera sesión (**pre-prueba**), se induce el estado de desesperanza tiene una duración de 15 min. La segunda sesión (**prueba**), cuya duración es de 5 min, se realiza 24 hr después de la preprueba. Esta sesión es videograbada y posteriormente, un observador que desconoce el tratamiento aplicado registra, en intervalos de 5 segundos, la frecuencia de aparición de la conducta de inmovilidad, nado y escalamiento, obteniendo de esta forma un total de 60 cuentas repartidas en las tres conductas evaluadas: 1) inmovilidad- movimientos mínimos que el animal realiza para mantener la cabeza fuera del agua y flotando; 2) nado - movimientos suaves que le permiten desplazarse alrededor del estanque y 3) escalamiento - movimientos rigurosos dirigidos hacia la pared del estanque (Porsolt y col, 1977; Detke y col, 1995; Lucki, 1997).

#### **5.5. Obtención y selección de cortes**

Con el fin de verificar el sitio de inyección intracerebral, después de realizada la prueba de nado forzado, las ratas fueron perfundidas con solución salina isotónica (NaCl 0.9 %) y formol al 10 %, para posteriormente ser degolladas y ser extraídos los cerebros. Una vez que los cerebros fueron extraídos, se procedió a realizar cortes coronales de 60 micras con la ayuda de un microtomo. Los cortes de cada cerebro fueron escaneados y observados en computadora,

tomándose solamente aquellas imágenes en donde se pudo observar que el sitio de administración fue en ventrículo.

## 5.6. Fármacos

Los fármacos y la hormona utilizada fueron: clorhidrato de Desipramina (DMI, Sigma-Aldrich, Mo, USA), Idazoxan (Sigma-Aldrich, Mo, USA), ICI 182,780 (Tocris, USA), Etilnil-estradiol (Sigma Chemicals Co., Mo, USA).

El antidepresivo DMI, al igual que el antagonista a receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos, Idazoxan, fueron disueltos en solución salina fisiológica (NaCl al 0.9%) y administrados vía subcutánea (s.c.) en un volumen de 2 ml/kg. El estrógeno, EE2 al igual que el antagonista a receptores de estrógenos, ICI 182,780, fueron disueltos en aceite de maíz o dimetil sulfoxido (DMSO), respectivamente. El EE2 se administró s.c. en un volumen de 0.2 ml por rata mientras que ICI 182,780 se administró i.c.v. siguiendo el método descrito en la sección 5.2.2.

## 5.7. Series experimentales

### Experimento 1. Participación del receptor $\alpha$ 2-adrenérgico en el efecto antidepresivo de EE2

En esta primera serie experimental se analizó el posible efecto de diferentes dosis del antagonista a receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2, Idazoxan, en la prueba de nado forzado. Esta curva se hizo para verificar que el antagonista idazoxan careciera de efecto *per se* en el nado forzado. Para ello, los grupos independientes de animales recibieron los tratamientos siguientes: vehículo (NaCl 0.9%, n=13) o idazoxan a 0.25 (n=7), 0.5 (n=5) ó 1.0 mg/kg (n=6). Idazoxan y el vehículo fueron administrados 23.5, 5 y 1h antes de la prueba (Cervo L. y cols, 1989)

En una segunda parte experimental se analizó el efecto de Idazoxan sobre el efecto antidepresivo de EE2. Los grupos formados para este experimento fueron: control, que recibió aceite + solución salina (n=9), EE2 5.0  $\mu$ g/rata (n=11), EE2 5.0  $\mu$ g/rata + Idazoxan 0.25 mg/kg (n=9), EE2 5.0  $\mu$ g/rata + Idazoxan 0.5 mg/kg (n=9), EE2 5.0  $\mu$ g/rata + Idazoxan 1.0 mg/kg (n=10).

### Experimento 2. Efecto del antagonista a receptores a estrógenos, ICI 182,780, sobre la acción antidepresiva inducida por EE2.

Con la finalidad de determinar la participación del receptor a estrógenos en el efecto antidepresivo inducido por el EE2, se evaluó la combinación de una dosis efectiva de EE2 (5.0  $\mu$ g/rata) con el antagonista a receptores a estrógenos, ICI 182

780. Para ello, se formaron los siguientes grupos independientes: aceite + DMSO (n=9), (EE2 5.0 µg/rata (n=9), EE2 5.0 µg/rata + ICI 182 780 10 µg/rata (n=10). La dosis y los tiempos de administración de ICI 182,780 fueron tomados de la literatura, y son aquellos efectivos para bloquear los RE (Frye y Rhodes, 2002; Wade y cols, 1993)

**Experimento 3. Efecto del antagonista al receptor  $\alpha$ 2-adrenérgico, Idazoxan, sobre el efecto antidepresivo de DMI.**

Inicialmente, analizamos el efecto de diferentes dosis de DMI en el modelo de nado forzado. Para ello se formaron grupos independientes: Control (solución salina isotónica 0.9%, n=13) o DMI a 5.0 mg/kg (n=5), 2.5 mg/kg (n=6), 1.25 mg/kg (n=6), 0.625 mg/kg (n=6).

En una segunda parte, los grupos independientes de animales recibieron como tratamiento una dosis de 2.5 mg/kg de DMI en combinación con diferentes dosis del antagonista a receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2, Idazoxan (0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg). Se formaron grupos independientes que recibieron uno de los siguientes tratamientos: solución salina + Idazoxan a 1.0 mg/kg (n=6), solución salina + Idazoxan 0.5 mg/kg (n=5), solución salina + Idazoxan 0.25mg/kg (n=7), DMI 2.5 mg/kg + Idazoxan 1.0 mg/kg (n=6), DMI 2.5 mg/kg + Idazoxan 0.5 mg/kg (n=6), DMI 2.5 mg/kg + Idazoxan 0.25 mg/kg (n=7).

**Experimento 4. Efecto del antagonista a receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2, Idazoxan, en el efecto antidepresivo inducido por la combinación de EE2 y DMI.**

Con el objetivo de evaluar la participación del receptor adrenérgico  $\alpha$ -2, en el efecto inducido por la combinación de dosis sub-efectivas de EE2 (1.25  $\mu$ g/rata) y DMI (0.625 mg/kg) en la prueba de nado forzado, se realizó una cuarta serie experimental formándose los siguientes grupos independientes: aceite + solución salina + solución salina (n=8), DMI a 0.625 mg/kg (n= 9), EE2 1.25  $\mu$ g/rata + DMI 0.625 mg/kg (n=9), EE2 1.25  $\mu$ g/rata + DMI 0.625 mg/kg + Idazoxan 1.0 mg/kg (n=8).

**Experimento 5. Efecto del antagonista al receptor a estrógenos, ICI 182,780, en el efecto antidepresivo inducido por la combinación de EE2 y DMI.**

En este experimento se analizó la participación del receptor a estrógenos en el efecto inducido por la combinación de EE2 y DMI. Se formaron grupos independiente que recibieron los siguientes tratamientos: aceite + solución salina + DMSO (n=6), EE2 1.25  $\mu$ g/rata + DMI 0.625 mg/kg + DMSO (n=7), EE2 1.25  $\mu$ g/kg + DMI 0.625 mg/kg + ICI 182 780 10  $\mu$ g/rata (n=10).

## 5.8. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados con una ANOVA de una vía, y sólo aquellos grupos que fueron diferentes con una  $p < 0.05$  fueron aceptados como estadísticamente significativos. Posteriormente, estos datos fueron analizados con las pruebas *post-hoc*: Dunnett, para comparaciones entre grupos experimentales contra el grupo control, o Tukey para comparaciones múltiples.

## CAPÍTULO VI

### RESULTADOS

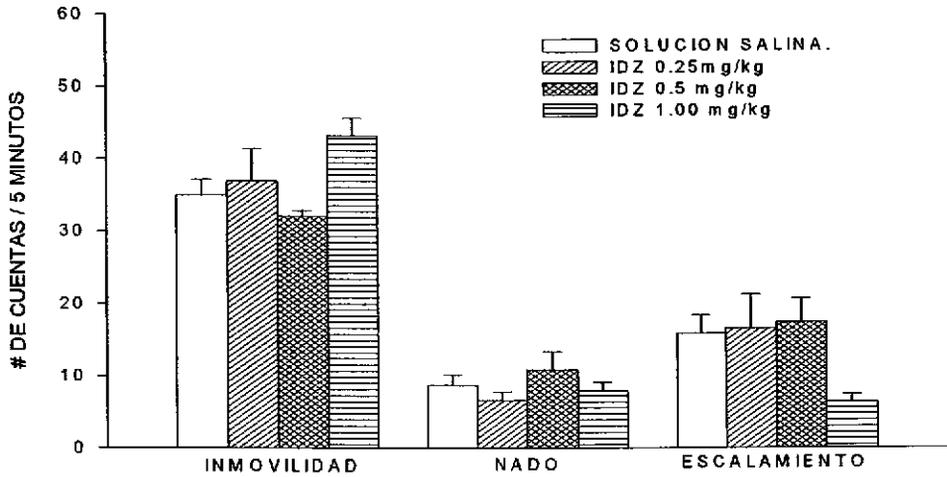
#### 6.1. Participación del receptor $\alpha$ 2-adrenérgico en el efecto antidepresivo de EE2

En la gráfica 1 se muestran el efecto del antagonista adrenérgico  $\alpha$ -2, Idazoxan, sólo (panel A) o en combinación con EE2 (panel B). Idazoxan a diferentes dosis no produjo cambios significativos en ninguna de las conductas de la prueba de nado forzado (inmovilidad,  $F_{3,27}=2.053$ ,  $p=0.130$ ; nado,  $F_{3,27}=0.836$ ,  $p=0.486$ ; escalamiento,  $F_{3,27}=2.128$ ,  $p=0.120$ ). De forma interesante, Idazoxan, a 0.5 y 1.0 mg/kg, inhibió el efecto antidepresivo producido por la dosis de 5.0  $\mu$ g/rata de EE2, es decir hubo una disminución estadísticamente significativa tanto en la conducta de inmovilidad ( $F_{4,43}=5.531$ ,  $p=0.001$ ) como en la conducta de escalamiento ( $F_{4,43}=4.788$ ,  $p=0.003$ ). En cuanto a la conducta de nado, no se observaron cambios significativos ( $F_{4,43}= 5.531$ ,  $p= 0.001$ ) en la acción del Idazoxan sobre el efecto provocado por EE2 (5 $\mu$ g/rata).

Por otro lado, Idazoxan *per se* a la dosis de 0.5 mg/kg produjo aumento significativo de la actividad ambulatoria en las ratas hembras ovariectomizadas, en comparación con la dosis mas de 1.0 mg/kg ( $F_{2,19}=4.14$ ,  $p=0.03$ ) (tabla 1); sin embargo, Idazoxan no modificó la actividad ambulatoria de las ratas tratadas con EE2 ( $F_{3,37}=1.23$ ,  $p= 0.29$ ) (tabla2) .

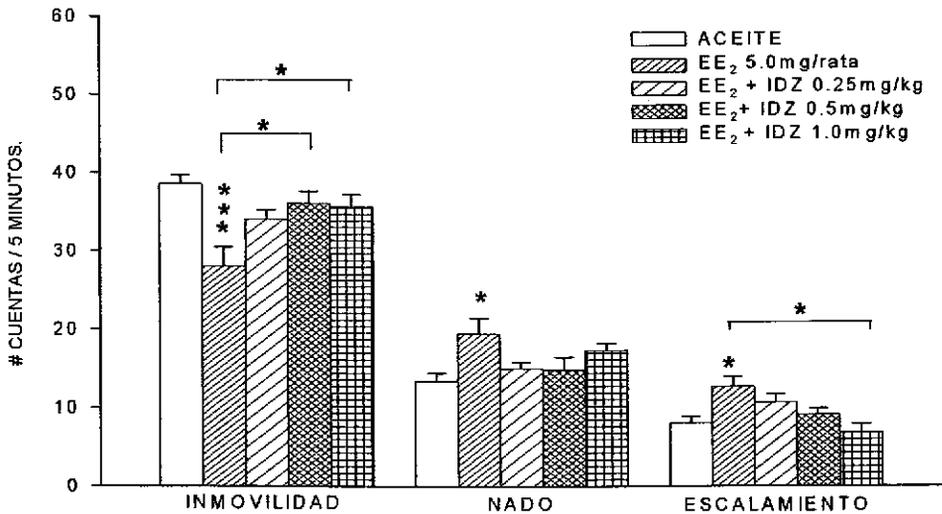
A)

**EFFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE IDAZOXAN**



B)

**EFFECTO DE EE<sub>2</sub> + IDAZOXAN**



**Gráfico 1.** Efecto de diferentes dosis del antagonista a receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos, Idazoxan (IDZ, n= 6-7 ratas por grupo) solo (panel A) o en combinación (panel B) con una dosis efectiva de EE2 (n= 9-11 ratas por grupo) en la prueba de nado forzado. Prueba Tukey: \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001.

**Tabla 1.** Efecto de Idazoxan en la actividad ambulatoria de ratas hembras ovariectomizadas. Prueba Tukey \* p < 0.05

Tratamiento	Media $\pm$ Error
Solución salina	48.37 $\pm$ 4.87
Idazoxan 0.5 mg/kg	61.66 $\pm$ 3.38 *
Idazoxan 1.0mg/kg	44.16 $\pm$ 3.79

**Tabla 2.** Efecto de la combinación de EE2 + Idazoxan en la actividad ambulatoria de ratas hembras ovariectomizadas. N.S

Tratamiento	Media $\pm$ Error
Aceite	45.88 $\pm$ 4.27
EE2 5.0 mg/kg	38.00 $\pm$ 2.90
EE2 +Idazoxan 0.5 mg/kg	39.75 $\pm$ 2.79
EE2 +Idazoxan 1.0mg/kg	39.30 $\pm$ 2.17

## 6.2. Cortes cerebrales.

En las figuras 8 y 9 se ilustran cortes coronales representativos del cerebro de la rata, en los cuales se muestra el sitio de la administración de ICI, 182,780 o en su caso DMSO (vehículo). La mayoría de las administraciones se localizaron en el área requerida (figura 8); sin embargo, los resultados de 7 ratas se descartaron debido a que la inyección se realizó fuera del ventrículo (Figura 9).

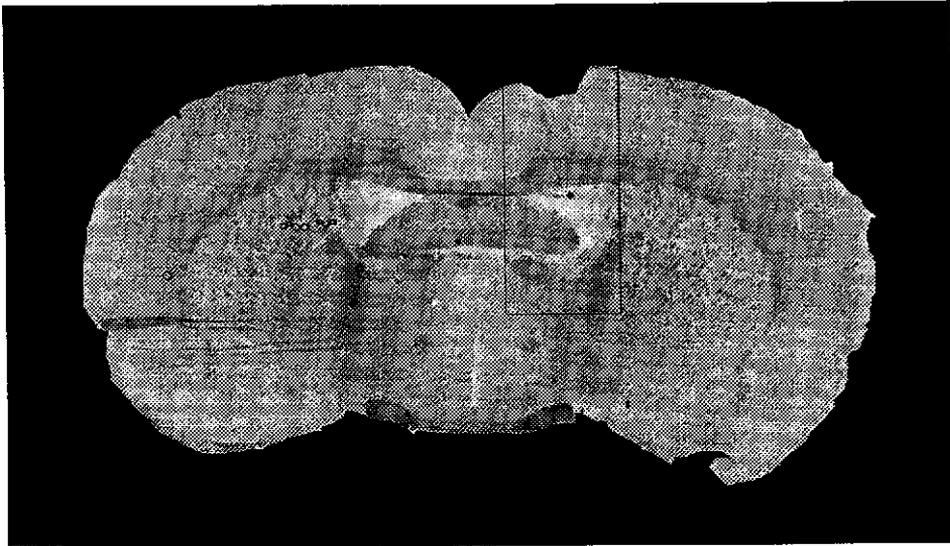


Figura 8. Corte coronal de un cerebro de rata. El área marcada con un rectángulo muestran la trayectoria de la aguja y el sitio de administración del fármaco (ventrículo derecho).

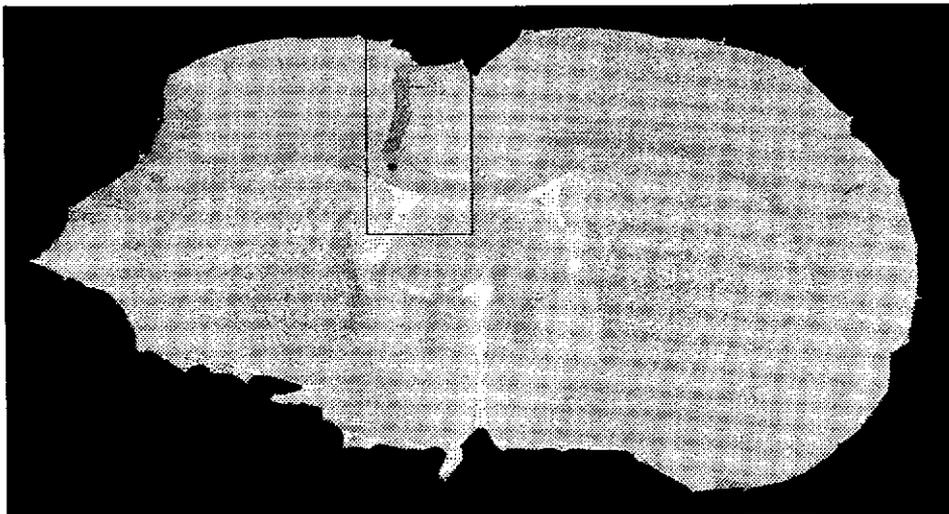


Figura 9. Corte coronal de un cerebro de rata. El área marcada con un rectángulo muestra el sitio de administración del fármaco (fuera de ventrículo).

### 6.3 Efecto del antagonista a receptores a estrógenos, ICI 182,780, sobre la acción antidepresiva inducida por EE2.

En el gráfico 2 se muestra el efecto de la aplicación simultánea del antagonista al receptor a estrógenos, ICI 182,780 y EE2, 48h antes de la prueba de nado forzado. Donde se puede observar que el decremento en la conducta de inmovilidad ( $F_{2,27}=5.75$ ,  $p=0.009$ ) y el incremento de la conducta de nado ( $F_{2,27}=8.139$ ,  $p=0.002$ ) producidas por la dosis 5  $\mu\text{g}/\text{rata}$  de EE2, fueron bloqueadas por la dosis de 10  $\mu\text{g}/\text{rata}$  de ICI 182,780. Ni EE2 ni el antagonista produjeron cambios en la conducta de escalamiento ( $F_{2,27}=1.408$ ,  $p=0.263$ ).

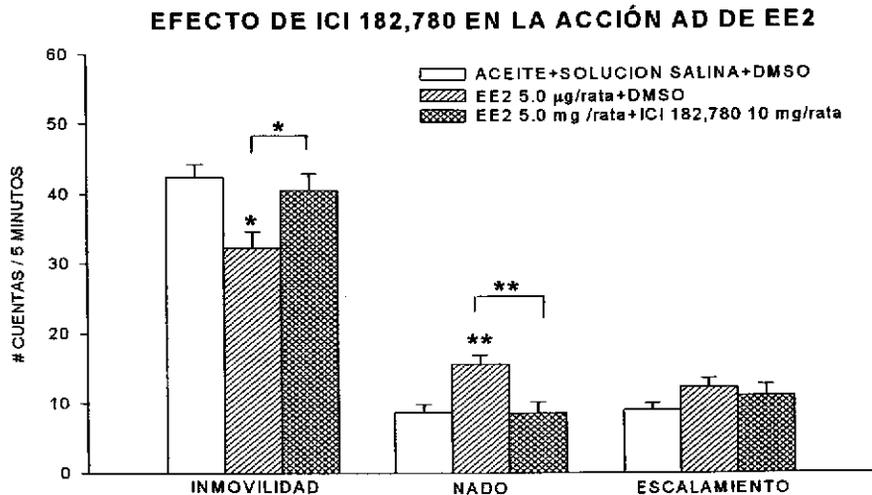


Gráfico 2. Efecto del antagonista a receptores a estrógenos ICI 182, 780 ( $n=9-10$  ratas por grupo) sobre el efecto de EE2 ( $n=9-10$  ratas por grupo) en la prueba de nado forzado. Prueba Tukey \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$

EE2 produjo disminución estadísticamente significativa de la actividad ambulatoria ( $F_{2,30}=5.66$ ,  $p=0.009$ ) en comparación con el del grupo vehículo.

Mientras que la combinación con el antagonista de los RE no se observó este efecto (tabla3).

Tabla 3. Efecto de la combinación de EE2 + ICI 182,780 en la actividad ambulatoria de ratas hembras ovariectomizadas. Prueba Dunnet \*  $p < 0.05$

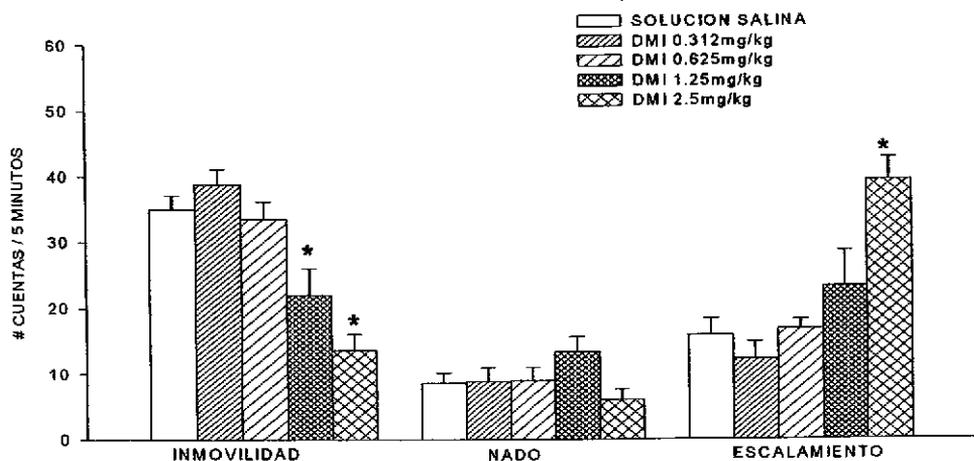
Tratamiento	Media $\pm$ Error
Aceite +DMSO	48.66 $\pm$ 3.90
EE2 5.0 mg/kg + DMSO	32.41 $\pm$ 3.06*
EE2 +ICI 182,780 10 $\mu$ g/kg	38.10 $\pm$ 3.40

#### 6.4. Efecto del antagonista al receptor $\alpha$ 2-adrenérgico, Idazoxan, sobre el efecto antidepresivo de DMI.

En el gráfico 3 (panel A) se muestra el efecto producido por diferentes dosis de DMI (0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 mg/kg), en ratas ovariectomizadas forzadas a nadar. DMI produjo disminución de la inmovilidad ( $F_{5,46}=11.227$ ,  $p < 0.001$ ), que fue dosis dependiente, acompañada de incremento en el escalamiento ( $F_{5,46}=9.679$ ,  $p < 0.001$ ), sin cambios en el nado ( $F_{5,64}= 2.298$ ,  $P=0.060$ ). Idazoxan a 0.5 y 1.0 mg/kg, bloqueó completamente el efecto antidepresivo de DMI (panel B). Este bloqueo se observó tanto en la inmovilidad ( $F_{4,33}=4.804$ ,  $p=0.004$ ) como en el escalamiento ( $F_{4,33}=5.331$ ,  $p=0.002$ ). En contraste, Idazoxan en combinación con el antidepresivo ( $F_{4,33}=1.418$ ,  $p=0.250$ ) no modificaron la conducta de nado.

A)

## EFECTO DOSIS-RESPUESTA DE DMI



B)

## EFECTO DE DMI + IDAZOXAN

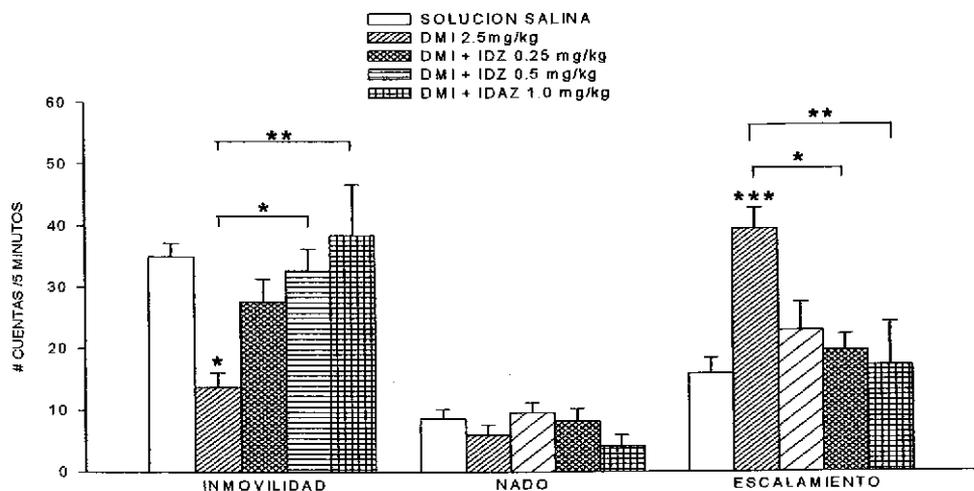


Grafico 3. Panel A) efecto de desipramina (DMI,  $n = 6-7$  ratas por grupo) en ratas hembras ovariectomizadas. Prueba Dunnett: \*  $p < 0.05$  versus grupo control. Panel B) efecto de la combinación de DMI ( $n = 6-7$  ratas por grupo) con diferentes dosis de del antagonista a receptores adrenérgicos  $\alpha-2$  idazoxan (IDZ,  $n = 6-13$  por grupo) en la prueba de nado forzado. Prueba Tukey \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$

DMI no modificó significativamente la actividad ambulatoria ( $F_{2,20}=0.694$ ,  $p=0.512$ ), sin embargo se presentó una tendencia a disminuir conforme se aumentaba la dosis (tabla 4). La combinación de idazoxan mas DMI (tabla 5) no modificó significativamente la actividad ambulatoria de las ratas hembras ( $F_{2,20}=1.62$ ,  $p= 0.22$ )

Tabla 4. Efecto de la combinación de DMI en la actividad ambulatoria de ratas hembras ovariectomizadas. N.S

Tratamiento	Media $\pm$ Error
Solución salina	45.66 $\pm$ 3.16
DMI 1.25 mg/kg	42.50 $\pm$ 2.06
DMI + 2.5 mg/kg	40.16 $\pm$ 4.52

Tabla 5. Efecto de la combinación de DMI + Idazoxan en la actividad ambulatoria de ratas hembras ovariectomizadas.

Tratamiento	Media $\pm$ Error
Solución salina	43.22 $\pm$ 5.20
DMI + Idazoxan 0.5 mg/kg	47.16 $\pm$ 7.51
DMI + Idazoxan 1.0mg/kg	59.00 $\pm$ 6.96

### 6.5. Efecto del antagonista al receptor $\alpha$ 2-adrenérgico, Idazoxan, en el efecto antidepresivo inducido por la combinación de EE2 y DMI.

El gráfico 4 muestra que el EE2 disminuyó la inmovilidad ( $F_{3,30}=3.790$ ,  $p=0.020$ ) y aumentó las conductas activas (nado:  $F_{3,30}=4.364$ ,  $p=0.012$ ; escalamiento:  $F_{3,30}=4.723$ ,  $p=0.008$ ) en ratas ovariectomizadas. Idazoxan bloqueó parcialmente el efecto antidepresivo inducido por la combinación de dosis subóptimas de EE2 más DMI. Este bloqueo parcial se observó en la tendencia a aumentar la inmovilidad y en la reducción estadísticamente significativa del escalamiento en comparación con el grupo tratado con la combinación. El aumento producido por la combinación de EE2 más DMI sobre el nado (aumento) no fue modificado por el Idazoxan.

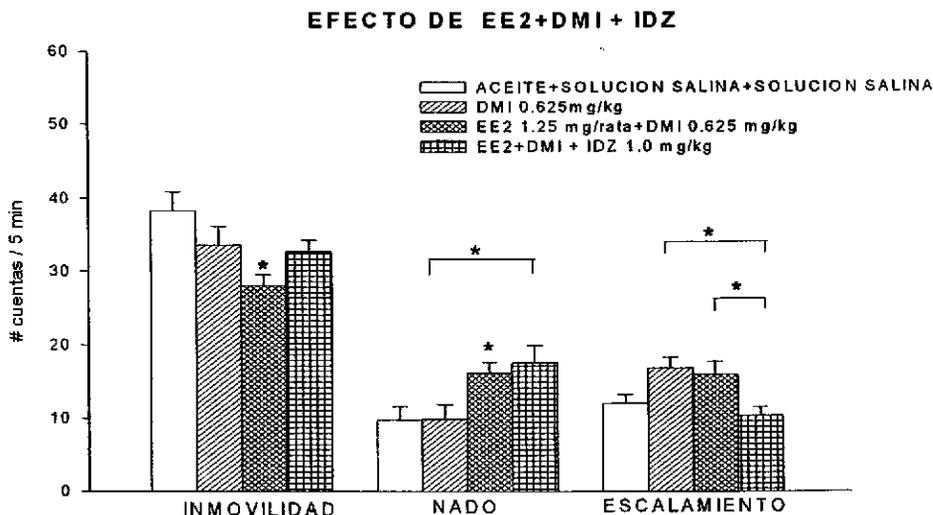


Gráfico 4. Efecto producido por el antagonista a receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos, Idazoxan, en combinación con la dosis de 0.625 mg/kg (no efectiva) de DMI en ratas hembras ovariectomizadas. Prueba Tukey, \*  $p < 0.05$ .

Ni la combinación de EE2 más DMI, ni con Idazoxan, modificaron la actividad ambulatoria (tabla 6) de los animales ( $F_{2,25}= 3.14, p=0.06$ ).

Tabla 6. Efecto de la combinación de EE2/DMI + Idazoxan en la actividad ambulatoria de ratas hembras ovariectomizadas.

Tratamiento	Media $\pm$ Error
Aceite + solución salina + solución salina	45.22 $\pm$ 5.06
EE2 1.25 $\mu$ g/rata + DMI 0.625 mg/kg + solución salina	43.77 $\pm$ 3.57
EE2 + DMI + Idazoxan 1.0mg/kg	31.87 $\pm$ 2.99

#### **6.6. Efecto del antagonista al receptor a estrógenos, ICI 182,780, en el efecto antidepresivo inducido por la combinación de EE2 y DMI.**

Los resultados del efecto de ICI 182,780 en animales tratados con EE2 y DMI se ilustran en el gráfico 5. La combinación del antidepresivo con el esteroide produjo disminución de la inmovilidad ( $F_{2,20}=8.267, p=0.002$ ) y aumento en el nado ( $F_{2,20}=6.691, p=0.006$ ) y en el escalamiento ( $F_{2,20}=4.179, p=0.030$ ). El ICI 182,780 inhibió parcialmente el efecto antidepresivo provocado por la combinación de EE2 y DMI sobre la inmovilidad, y bloqueó totalmente el efecto de DMI y EE2 sobre el nado. En contraste, el antagonista de los receptores a estrógenos no modificó el efecto de EE2 y DMI sobre el escalamiento.

### EFFECTO DE EE2+DMI + ICI182 780

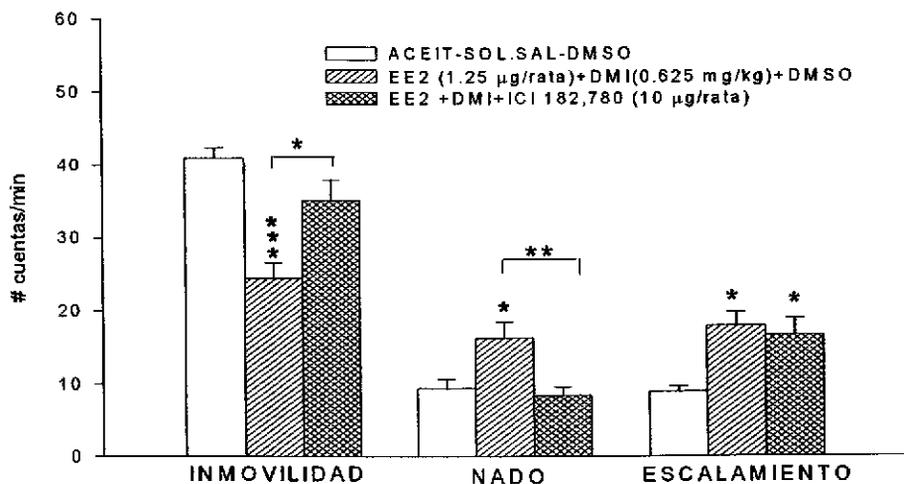


Gráfico 5. Efecto producido por el antagonista a receptores  $\alpha$ -2 adrenergicos, Idazoxan (IDZ, n= 8-9 ratas por grupo) sobre el efecto conductual producido por una dosis sub-óptima de EE2 en combinación con una dosis no efectiva de DMI en la prueba de nado forzado. Prueba Tukey, \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$

Si bien la combinación EE2 más DMI no produjo cambios en la actividad ambulatoria (tabla 7), el antagonista de los RE en animales tratados con la combinación si produjo una reducción significativa en esta conducta ( $F_{2,23} = 3.99$ ,  $p = 0.03$ ).

Tabla 7. Efecto de la combinación de EE2/DMI + ICI 182,780 en la actividad ambulatoria de ratas hembras ovariectomizadas. Prueba Dunnet \*  $p < 0.05$

Tratamiento	Media $\pm$ Error
Aceite + solución salina + DMSO	48.222 $\pm$ 4.048
EE2 1.25 µg/rata + DMI 0-625 mg/kg + DMSO	42.143 $\pm$ 5.906
EE2 + DMI + ICI 182,780 10 µg/rata	31.375 $\pm$ 3.168 *

## CAPITULO VII

### DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que en la acción antidepresiva de EE2, caracterizada por disminución de la inmovilidad y aumento de las conductas activas, participan tanto los receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2 como los receptores intracelulares a estrógenos. EE2 facilita el efecto antidepresivo de DMI, vía un mecanismo que involucra a los receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2, y en mayor medida a los receptores a estrógenos.

EE2 es un estrógeno ampliamente utilizado en la práctica clínica como anticonceptivo, sólo o en combinación con progestinas (Sojo-Aranda, 1990). Además de su efectividad para evitar la gestación, se ha propuesto que este esteroide, así como otros estrógenos, tienen actividad antidepresiva (Estrada-Camarena y col, 2003). Estrada-Camarena y col. (2003) reportaron que la administración de diferentes compuestos estrogénicos, entre ellos EE2, produce un efecto semejante al de los fármacos antidepresivos en la prueba de nado forzado. En el presente trabajo encontramos resultados similares ya que EE2 produjo acciones antidepresivas en ratas ovariectomizadas. Dado que EE2 tienen afinidad por los receptores a estrógenos, una primera aproximación fue evaluar la participación de éstos en las acciones de EE2. En estos experimentos el antagonista de los receptores a estrógenos, ICI 182,780, bloqueó totalmente el efecto antidepresivo de EE2, y revirtió el aumento del nado producido por este

esteroide, sugiriendo que los receptores a estrógenos participan en el efecto antidepresivo del EE2.

Los receptores a estrógenos han sido clasificados como  $\alpha$  y  $\beta$  (Österlund y Hurd, 2001; McEwen, 1999), y de acuerdo con datos de la literatura la isoforma  $\beta$  está mas implicada en los procesos de trastornos afectivos (Gustafsson, 1999). El ICI 182,780 es un antagonista general para los receptores a estrógenos, por lo tanto, con el presente experimento no se puede determinar la participación exacta de las dos isoformas del receptor a estrógenos en las acciones antidepresivas del EE2.

En nuestros experimentos, EE2 produjo disminución de la inmovilidad junto con aumento de las conductas activas, nado y escalamiento. Aunque EE2 disminuyó la actividad ambulatoria, este efecto no influyó en la disminución de la inmovilidad y aumento de las conductas activas que es producido por EE2 en FST. De acuerdo con la interpretación de Detke y Lucki (1995; 1997), el aumento de estas conductas refleja la participación de los sistemas de neurotransmisión serotoninérgico y noradrenérgico, respectivamente, en el efecto de los fármacos antidepresivos. Con el fin de evaluar inicialmente la participación del sistema noradrenérgico en el efecto de EE2, utilizamos el antagonista de los receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2, Idazoxan. Encontramos que Idazoxan en la dosis más baja (0.25 mg/kg) bloqueó parcialmente el efecto de EE2 en la inmovilidad y el escalamiento, en tanto que las dosis más altas, principalmente 1.0 mg/kg, bloquearon totalmente el efecto del esteroide sobre ambas conductas. De esta

manera se puede proponer que además de la participación del receptor a estrógenos, los receptores adrenérgico  $\alpha$ -2 también intervienen en la acción antidepresiva producida por el estrógeno EE2.

Aunque Idazoxan *per se* produjo aumento de la actividad ambulatoria, este incremento no interfirió con la conducta en la prueba de nado, ya que éste no modificó ni la inmovilidad ni las conductas activas.

DMI es un antidepresivo tricíclico que se sabe inhibe la recaptura de NA (Feldman, 1997). En la prueba de nado forzado, DMI produce disminución de la inmovilidad y aumento del escalamiento, un efecto que se observó en los experimentos realizados en este estudio, y que fue dosis-dependiente. En nuestro estudio encontramos que los receptores adrenérgicos  $\alpha$ -2 participan en el efecto antidepresivo de DMI en ratas ovariectomizadas, ya que el antagonista selectivo para estos receptores, Idazoxan, bloqueó totalmente las acciones antidepresivas del inhibidor de la recaptura de NA.

Con respecto a la combinación de las dosis sub-óptimas de EE2 más DMI, se pudo observar una acción antidepresiva caracterizada por una disminución en la inmovilidad y un aumento en las conductas de nado y escalamiento. Resultados similares han sido encontrados por Estrada-Camarena y cols, (2004), ya que han reportado que compuestos estrógenicos, tales como EE2 además de producir un efecto antidepresivo facilitan la acción de algunos antidepresivos.

Interesantemente en la FST, el perfil conductual (disminución de la conducta de inmovilidad acompañado de una conducta de escalamiento y nado) de este compuesto estrogénico prevalece independientemente del antidepresivo utilizado, por ejemplo un inhibidor de la recaptura de serotonina (Estrada-Camarena y cols, 2004).

Con el fin de conocer el mecanismo de acción que nos permita explicar el efecto antidepresivo inducido por la combinación de EE2 y DMI, se evaluó como primera aproximación la participación del receptor adrenérgico  $\alpha$ -2. En este caso, encontramos que Idazoxan bloqueó parcialmente el efecto en la conducta de inmovilidad y escalamiento. De acuerdo a estos resultados es posible considerar que el receptor adrenérgico  $\alpha$ -2 no es el único que está interviniendo en el sinergismo producido por la combinación de EE2 y DMI. Con respecto a este punto, es importante considerar que EE2 puede interactuar con receptores noradrenérgicos y serotoninérgicos, los cuales podrían estar mediando el efecto sobre las conductas de nado y escalamiento (Estrada-Camarena y cols, 2003). Así también hay que recordar que las acciones de este estrógeno también involucran su unión con los RE, lo que podría explicar porqué Idazoxan no bloquea totalmente el efecto producido por la combinación EE2/DMI.

Con respecto a la participación del RE en la acción antidepresiva de EE2/DMI, encontramos que el antagonista a RE, ICI 182,780, bloqueó totalmente el efecto antidepresivo producido por la combinación, revirtiendo la conducta de

inmovilidad y la de nado. Sin embargo, el aumento del escalamiento producido por la combinación EE2/DMI no fue revertido por ICI 182,780. Desconocemos porque el antagonista para los RE no inhibió el efecto de la combinación sobre el escalamiento, una posible explicación es que la dosis utilizada no haya sido efectiva para promover cambios a este nivel. La disminución de la actividad ambulatoria en el grupo tratado con EE2/DMI más ICI 182,780 no parece ser un factor determinante en el aumento de la inmovilidad y la disminución del nado provocados por el antagonista de RE, ya que aún con este tratamiento las ratas mostraron un aumento de la conducta de escalamiento.

## CAPÍTULO VIII

### Conclusiones

8.1. Tanto los receptores a estrógenos como los  $\alpha$ 2-adrenérgicos participan en el efecto antidepresivo producido por el EE2 en ratas hembras ovariectomizadas. De los dos tipos de receptores, la participación de los RE es mas significativa para las acciones antidepresivas de este estrógeno.

8.2. Los receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos participan en el efecto antidepresivo producido por un tratamiento sub-crónico con el inhibidor de la recaptura de NA, DMI, en las ratas ovariectomizadas.

8.3. La combinación de dosis sub-óptimas de EE2 y DMI produjo un efecto antidepresivo mediado por un sinergismo. Este efecto antidepresivo fue manifestado con un perfil conductual idéntico al producido por el EE2, sugiriendo que éste predomina sobre el perfil de DMI.

8.4. En el efecto antidepresivo producido por la combinación de EE2 más DMI participan, principalmente los receptores a estrógenos, y en menor grado, los receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos.

8.5. Los resultados del presente trabajo apoyan la idea de que los estrógenos regulan la depresión en individuos del sexo femenino, y que esta regulación no se debe sólo a su interacción con sus propios receptores intracelulares, sino que también es mediada por su interacción con el sistema noradrenérgico.

## **PERSPECTIVAS**

Tomando en cuenta que el efecto antidepresivo ejercido por EE2 podría estar mediado tanto por el sistema noradrenérgico como por el serotoninérgico, además de los receptores a estrógenos, se sugiere seguir con la línea de investigación, esto con la finalidad de conocer el mecanismo de acción por el cuál EE2 esta induciendo un efecto antidepresivo y potenciando el efecto de fármacos con propiedades antidepresivas. Entre las preguntas que quedan por responder estan: ¿El receptor b-adrenérgico participa en el efecto antidepresivo inducido por el EE2 sólo o en combinación con DMI?, ¿ Qué tipo de receptores serotoninérgicos estan participando en el mecanismo de acción inducido por el EE2 sólo o en combinación con DMI?

## 10.0 Referencias bibliográficas

- Bernardi M, Vergoni A, Sandrini M, Tagliavini S, Bertolini. Influence of ovariectomy, estradiol and progesterone on the behavior of mice in experimental model of depression. *Physiology Behavioural* 45: 1067-1068, 1989.
- Caraveo-Anduaga J, Colmenares E, Saldivar G. Estudio clínico-epidemiológico de los trastornos depresivos. *Salud Mental* V.22, No.2: 7-17, Abril 1999
- Cardinali D. y Gómez E. Changes in Hypothalamic noradrenaline, dopamine and serotonin uptake after oestradiol administration to rats. *Journal. Endocrinology* 73: 181-182, 1997
- Carlberg KA, Fregly MJ. Catecholamine excretion and beta-adrenergic responsiveness in estrogen-treated rats. *Pharmacology* 32: 147-56, 1986
- Carrasco S D J, Baldomero B E, Carrasco P J L. Trastornos depresivos. Manual de Psiquiatría. *Ars Medica*, 173-181, Madrid España, 2002
- Cervo Luigi, Grignaschi Giuliano and Samanin Rosario.  $\alpha_2$ -Adrenoreceptors blockade prevents the effect of desipramine in the forced swimming test. *European Journal of Pharmacology* 175: 301-307, 1990
- Connor T J, Kelliher P, Shen Y, Harkin A, Kelly J P, Leonard B E. Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced-swim test. *Pharmacology Biochem Behavioural* 65: 591-597, 2000.
- Detke J M, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology* 121: 66-72, 1995
- Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Ruvalcaba C. Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology* 28: 830-838, 2003

- Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Ruvalcaba C. Interaction between estrogens and antidepressants in the forced swimming test. *Psychopharmacology* 173: 139-145, 2004
- Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Ruvalcaba C. Participation of the 5-HT (1A) receptors in the antidepressant-like effect of estrogens in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology* 13: 2005
- Feldman R S, Meyer J S, Quenzer L F. *Principles of Neuropsychopharmacology*. Sinauer, 1997
- Frye CA, Rhodes ME. Enhancing effects of estrogen on inhibitory avoidance performance may be in part independent of intracellular estrogen receptors in the hippocampus. *Brain Research*. 29: 285-293, 2002
- Galea AM, Liisa, Wide K, Jennifer, Barr M, Alasdair. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression. *Behavioural Brain Research* 122. 1-9, 2001
- Glavin G B. Selective noradrenaline depletion markedly alters stress responses in rats. *Life Sci* 5: 461-465, 1985
- Geyer Mark A, Markou Athina. *Animal Models of Psychiatric disorders*. En *Psychopharmacology. The Fourth Generation of Progress*. Bloom Floyd E., Kupfer David J (eds). Raven Press New York: 1995
- Guengerich Peter F. Metabolism of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol in humans. *Life Sciences* 47: 1981-1998, 1990
- Gustafsson J-A. Estrogen receptor  $\beta$  a new dimension in estrogen mechanism of action. *Journal of Endocrinology* 163: 379-383, 1999.
- Halbreich U, Endicott S, Nee J. Premenstrual Changes and changes in gonadal hormones. *Acta Psychiatr Scand* 74:576-586, 1986
- Hendrick V, Altshuler L, Suri R. Hormonal changes in the post-partum and implications for post-partum depression. *Psychosomatics* 39: 93-102, 1998

- Jordan C V, Mittal S, Gosden B, Koch R, y Lieberman M E. Structure-Activity relationships of estrogens. *Environmental Health Perspectives* 61:97-110, 1985.
- Karkanas G, Li C. y Etgen A M. Estradiol reduction of  $\alpha$ -2 adrenoreceptor binding in female rat cortex is correlated whith decreases in alpha2 $\alpha$ - $\delta$ -adrenoreceptor messenger RNA. *Neuroscience* 81: 593-597, 1997
- Katzenellenbogen B S. Estrogen receptors: Bioactivities and interactions with cell signaling pathways. *Biology of reproduction*. 54: 287-293, 1996
- Kitada Y, Miyauchi T, Satoh A, Satoh S. Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. *European Journal Pharmacology* 72: 146-152, 1981
- Lucki I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behavioural Pharmacology* 8: 523-532, 1997
- Mcewen B S. The molecular and neuroanatomical basis for estrogen effects in the central nervous system. *The Journal of Clinical & Metabolism. Clinical Review* 108: 1790-1797, 1999
- Mcewen B S. Genome and hormones: Gender Differences in Physiology. Invited Review: Estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *Journal of Applied Physiology* 91: 2785-2801, 2001
- Meana J J, Barturen F., Garcia-Sevilla J A. Alpha 2-adrenoceptors in the brain of suicide victims: increased receptor density associated with major depression. *Biology Psychiatry* 31:471-490, 1992
- Miller H, Delgado P, Salomon R, Berman, Cristal J, Heninger G, Charney D. Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant-induced remission of depression. *Arch Gen Psychiatry* 53: 117-128, 1996
- Nemeroff. B C. The neurobiology of depression. *Scientific American*: 42-49, 1998

- Österlund M, Kuiper G G J M, HURD Y L. Differential distribution and regulation of estrogen receptor- $\alpha$  y - $\beta$  mRNA within the female rat brain. *Molecular Brain Reserarch*. 54: 175-180, 1998
- Österlund M K, Hurd Y L. Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders. *Progress in Neurobiology* 64: 251-267, 2001
- Paxinos G and Wston. The rat brain in Stereotaxic coordinates. Academic Press. Synney 1997
- Porsolt R, Le Pichon M, Jalfred M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266: 730-732, 1977
- Porsolt R, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal Pharmacology* 47: 379-391, 1979
- Porsolt R, Lenegre A. behavioral models of depression. En Elliot J, Heal D, Maisden C. (eds) *Experimental approaches to anxiety and depression 1a*. ed. New York, Wiley, pp 73-85, 1992
- Okada M, Hayashi N, Kometani M, Nakao K. y Inukai T. Influences of ovariectomy and continuous replacement of 17 $\beta$ -estradiol on the tail skin temperature and behavior in the forced swimming test in rats. *Japan Journal Pharmacology* 73: 93-96, 1997
- Rachman I, Unerstall J, Pfaff D, Cohen R. Estrogens alters behavior and forebrain c-fos expression in ovariectomized rats subjected to the forced swim test. *Proc Natl Acad Sci, USA* 95: 13941-13946, 1998
- Réneric J P. y Lucki I. Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology* 136: 190-197, 1998
- Shackelford DP, Mcconnaughey MM, Iams SG. The effects of estradiol and mestranol on alpha-adrenoceptors in select regions of the rat brain. *Brain Res Bull* 21: 329-33, 1988
- Sojo-Aranda I., Gallegos C V. Farmacodinámica de los estrógenos sintéticos. *Ginec Obst México* 58: 277-283, 1990.

- Spyrali C., Fibiger H C. Functional evidence for subsensitivity of noradrenergic alpha 2 receptors after chronic desipramine treatment. En Brunello N., Mendlewicz Kasper, Leonard B., The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depresión. *European Neuropsychopharmacology* 12: 461-475, 2002
- Stahl S M, M D, Ph. D. Depression and Bipolar Disorders. En : Stahl S M., M. D. , Ph. D. *Essential Psychopharmacology. Neuroscientific basis and Practical Application.* Cambridge University Press, 135-197, New York, 2000.
- Stahl S M, M. D, Ph. D. Basic Psychopharmacology of antidepressants, Part 1: Antidepressants Have Seven Distinct Mechanisms of Action. *Journal Clinical Psychiatry* 59: 5-14, 1998
- Vetulani J., Nalepa I. Antidepressants: past, present and future. *European Journal of Pharmacology* 405:351-363, 2000.
- Wade G N, Blaustein JD, Gray JM, Meredith JM: ICI 182,780: A pure antiestrogen that affects behaviors and energy balance in rats without acting in the brain. *Am Journal. Physiology* 265: 1392-1398, 1993.
- Wolf A., Rhodes M., Frye C.. Antidepressant effects of ER  $\beta$ - selective estrogen receptor modulators in the forced swim test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 78: 523-529, 2004.
- Wallace L J. Agentes Psicofarmacológicos. En *Farmacía. REMINGTON.* Buenos Aires. *Medica Panamericana* Vol 2. Pag. 1709-1715, 2003
- Wagner R., Davies J. Decreased  $\beta$ -adrenergic responses in the female rat brain are eliminated by ovariectomy: correlation of [3H]dihydroalprenolol binding and catecholamine stimulated cyclic AMP levels. *Brain Research* 201: 235-239, 1980
- Willner P. Animal models of depression. En: *Handbook of depression and anxiety. A biological approach.* De Boer J, Sitsen J (ed). Marcel Dekker Inn N. Y. pp 291-316, 1994.
- Wilson. M A., Dwyer K D., y Roy E. Direct effects of ovarian hormones on antidepressant binding sites. *Brain Research* 22: 181-185, 1988.

- Wilkinson M., Hung J H. Diethylstilbestrol regulates the number of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic binding sites in incubated hypothalamus and amygdala. Brain Research 248: 79-85, 1982
- Williams C L. y Stancel G M. Estrógenos y Progestágenos. En: GOODMAN AND GILMAN. Las bases farmacológicas de la terapéutica. MCGRAW-HILL INTERAMERICANA. 1497-1529. México, 1996