



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“ PARTICIPACIÓN DE LOS ESTRÓGENOS EN EL EFECTO DE FÁRMACOS
ANTIDEPRESIVOS SEROTONÉRGICOS Y NORADRENÉRGICOS ”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
Q U Í M I C O
P R E S E N T A :
JOSÉ JUAN CRUZ MARTÍNEZ



MÉXICO, DF.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

Profra. Ana María Vázquez Álvarez

Vocal

Profra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez

Secretario

Profra. Lucía Alba Martínez Mota

1er. Suplente

Profra. Perla Carolina Castañeda López

2do. Suplente

Profra. Ruth Bustamante García

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Farmacología Conductual. Dirección de Investigaciones en Neurociencias.

Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

Asesora del tema:

Dra. Lucía Alba Martínez Mota

Sustentante

José Juan Cruz Martínez

Gracias:

A la facultad de Química de la UNAM por la formación profesional otorgada.

A la Dra. Lucía Martínez Mota, por confiar en mí y orientarme para llevar a cabo con éxito la realización de esta tesis, además de la amistad ofrecida.

A la Dra. Erika Estrada Camarena, por su amistad, sus consejos y observaciones en la expresión oral.

A la QFB Nelly Maritza Vega Rivera por su apoyo, amistad y paciencia.

Al H. Jurado, por el tiempo dedicado a la revisión de esta la tesis y por sus comentarios para mejorarla.

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

Dedicada a:

Mis padres, por todo el apoyo incondicional, el amor y por creer en mí.

Mis hermanas por el apoyo recibido, el cariño y por todo el tiempo que hemos compartido.

A todos mis "amigos", compañeros y demás, sobre todo por aguantarme.

| | |
|--|----|
| 1. Introducción..... | 1 |
| 2. Planteamiento del problema..... | 3 |
| 3. Antecedentes..... | 4 |
| 3.1 Trastornos del estado de ánimo..... | 4 |
| 3.1.1 Dimorfismo sexual de los trastornos depresivos..... | 4 |
| 3.1.2 Hipótesis sobre la depresión..... | 6 |
| 3.2 Sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos..... | 9 |
| 3.2.1 Serotonina..... | 9 |
| 3.2.2 Noradrenalina..... | 11 |
| 3.3 Fármacos antidepresivos..... | 14 |
| 3.3.1 Inhibidores de la monoamina oxidasa..... | 14 |
| 3.3.2 Antidepresivos tricíclicos..... | 15 |
| 3.3.3 Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina..... | 16 |
| 3.3.4 Inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina..... | 18 |
| 3.4 Hormonas gonadales..... | 20 |
| 3.4.1 Testosterona..... | 22 |
| 3.4.2 Metabolismo de la testosterona..... | 23 |
| 3.4.3 Mecanismo de acción de T y otras hormonas esteroides..... | 25 |
| 3.4.4 Funciones de la T en el organismo..... | 26 |
| 3.4.5 Estrógenos..... | 28 |
| 3.4.6 Efecto de los estrógenos en el hombre..... | 29 |

| | |
|---|----|
| 3.4.7 Andrógenos en los trastornos psiquiátricos..... | 32 |
| | 34 |
| 4. Hipótesis..... | |
| | 34 |
| 5. Objetivos..... | |
| | |
| 6. Material y métodos | 35 |
| 6.1 Sujetos experimentales..... | 35 |
| 6.2 Cirugía..... | 35 |
| 6.3 Pruebas conductuales | 35 |
| . | |
| 6.3.1 Prueba de nado forzado..... | 35 |
| 6.3.2 Actividad locomotriz..... | 37 |
| 6.4 Fármacos..... | 37 |
| 6.5 Series experimentales. | 38 |
| 6.6 Análisis estadístico | 40 |
| 7. Resultados | 41 |
| 8. Discusión..... | 50 |
| 9. Conclusiones..... | 55 |

| | |
|---------------------------------|----|
| Anexo I..... | 56 |
| Anexo II..... | 58 |
| Anexo III..... | 60 |
| Anexo IV..... | 62 |
| Referencias bibliográficas..... | 65 |

1. Introducción

La depresión es una patología grave y persistente cuya principal característica es una extrema tristeza. Puede aparecer acompañada de varios síntomas concomitantes, incluidos las perturbaciones del sueño y del apetito, la pérdida de iniciativa, el auto castigo, el abandono, la inactividad y la incapacidad para el placer. Esta enfermedad ha llegado a ser un problema de salud pública a nivel mundial ya que modifica cada uno de los aspectos de la vida de quien la padece ⁽³²⁾, además de ser un factor de riesgo para el suicidio ⁽³²⁾.

La depresión afecta a hombres y mujeres de todas las edades, aunque parece ser mas frecuente en periodos donde existen variaciones en las concentraciones de hormonas gonadales, como en la menopausia y andropausia ^(9,33). Los fármacos antidepressivos pueden ser de gran ayuda como tratamiento para este trastorno, pero en muchos casos son inefectivos, lo que, de acuerdo con datos de la literatura, depende en gran medida del estado endocrino de los pacientes ⁽³³⁾.

En el caso particular de lo hombres, se ha reportado que los fármacos antidepressivos, son inefectivos en pacientes hipogonadales, es decir, en aquellos cuyas concentraciones de T libre se encuentran por debajo del límite normal ⁽⁴⁸⁾, lo que sugiere que las hormonas gonadales regulan el efecto de los fármacos antidepressivos en el hombre.

Trabajos previos de nuestro grupo indican que la T participa en el efecto de fármacos antidepressivos, ya que en animales castrados hay disminución de la respuesta a este compuesto ⁽³⁴⁾. La restitución con T en un tratamiento de largo plazo recuperó el efecto de los antidepressivos, una respuesta que se observó similar a la encontrada en animales gonadalmente intactos ⁽³⁴⁾. La T es metabolizada a otros andrógenos reducidos en las posiciones 5α y 3α , y a E_2 , en este caso por la enzima

aromatasa. Tomando en cuenta que no existe evidencia de que los andrógenos $5\alpha,3\alpha$ -reducidos producen acciones antidepresivas, sugerimos que la regulación del efecto de fármacos antidepresivos ejercida por T en los machos puede ser mediada por su conversión a E_2 . Por ello, en el presente estudio se evaluó la participación del E_2 en el efecto antidepresivo de los compuestos DMI y FLX, en ratas macho.

3. Planteamiento del problema

Está demostrado que la disminución de los niveles plasmáticos de andrógenos en el hombre provoca un estado depresivo, en tanto que la restitución con T puede abatir estos síntomas ^(26,35), incluso, puede permitir el efecto de fármacos antidepresivos en pacientes resistentes a un tratamiento farmacológico ⁽⁴⁷⁾. Esta condición clínica ha podido replicarse en modelos animales, ya que se ha encontrado que la orquidectomía en ratas modifica la respuesta a los fármacos antidepresivos DMI y FLX, y la restitución con T, en dosis consideradas fisiológicas, recupera el efecto antidepresivo para DMI, pero no para FLX ⁽³⁴⁾. Se desconoce cual es el papel de la T en la regulación de los fármacos antidepresivos, así como si tal efecto es debido a este andrógeno o a otro compuesto derivado de su metabolismo.

La T produce sus acciones por interacción con receptores a andrógenos ubicados en el citoplasma de las células. En un estudio previo, usando un antagonista de receptores a andrógenos (flutamida) se observó que el efecto antidepresivo del fármaco DMI no fue bloqueado por la flutamida (datos no mostrados), lo cual sugiere que la conversión de T a E₂ probablemente modula el efecto del antidepresivo. Asimismo, actualmente no se tienen estudios sobre la modulación que ejercen los metabolitos de T sobre los estados depresivos, con lo cual resulta interesante estudiar que compuesto estaría mediando el efecto de los antidepresivos. Un compuesto candidato es el estradiol, ya que se ha confirmado que los estrógenos producen efecto antidepresivo cuando son aplicados en ratas ovariectomizadas ⁽¹⁰⁾. Con base en estas evidencias, resulta interesante conocer si el estradiol, el cual deriva de la aromatización de la T, también modula las acciones de los antidepresivos en la rata macho.

2. Antecedentes

2.1 Trastornos del estado de ánimo

Según el Manual estadístico y diagnóstico de enfermedades mentales ⁽³²⁾, los trastornos del estado de ánimo están divididos en trastornos depresivos, trastornos bipolares y dos trastornos basados en la etiología: trastornos del estado de ánimo debido a enfermedad médica y trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias (ver anexo I). La más común de estas enfermedades es el episodio depresivo mayor, el cual consta de un periodo, de al menos dos semanas, durante el que hay estado de ánimo deprimido o pérdida de intereses o placer en casi todas las actividades. El sujeto también debe experimentar al menos otros cuatro síntomas de una lista que incluye cambios de apetito o peso, del sueño y de la actividad psicomotora; falta de energía; sentimientos de infravaloración o culpa; dificultad para pensar, concentrarse o tomar decisiones, y pensamientos recurrentes de muerte, o ideación, planes o intentos suicidas ⁽³²⁾.

Las causas asociadas a la aparición de la depresión son diversas, tales como factores genéticos, biológicos y psicosociales como la edad y sexo, por mencionar algunos ⁽³⁷⁾. Según las estadísticas, la depresión tiene una prevalencia de 18 % a nivel mundial ⁽³⁷⁾, en tanto que en la ciudad de México la prevalencia durante la vida de la población adulta (18 a 65 años) es del 12% ⁽³⁾. Considerando esta información, la depresión se ha convertido en uno de los trastornos mentales más frecuentes y al ser una enfermedad incapacitante es de vital importancia su estudio y su tratamiento.

2.1.1 Dimorfismo sexual de los trastornos depresivos

La depresión afecta en mayor grado a mujeres que a hombres, en una relación de 2:1 ⁽³⁷⁾, lo que ha llevado a sugerir que las oscilaciones hormonales a lo largo de la

vida de la mujer influyen en la prevalencia de estos trastornos afectivos ^(9,23). Tradicionalmente, se acepta que los cambios hormonales en sujetos del sexo masculino no forman parte de la etiología de la depresión; sin embargo, algunas evidencias clínicas ^(48, 55,60) indican que la disminución de la T libre, es decir que no se encuentra ligada a globulinas en individuos hipogonadales o durante la madurez y la vejez correlacionan con la presencia de trastornos depresivos (Ver figura1 y tabla 1).

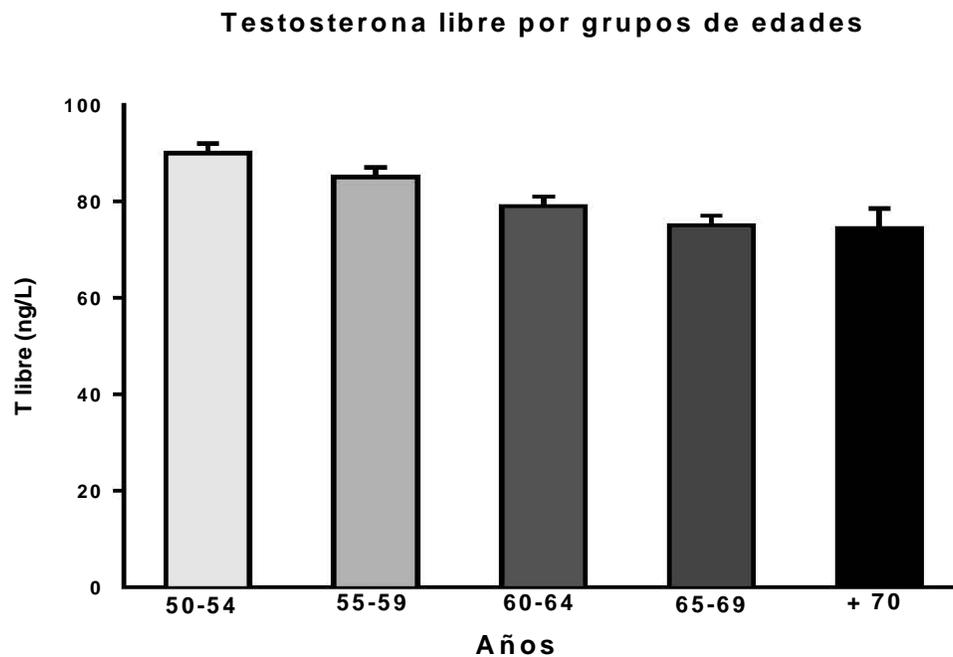


Figura 1. Variación de la concentración de testosterona en hombres, en función de la edad Estadística correlacion de Pearson $r=-0.18$, $p<0.0001$ (tomada de 55).

Tabla 1. Depresión relacionada a la edad y a la concentración de testosterona en pacientes del sexo masculino.

| Población (número de sujetos y rango de edad) | Concentración de T | Trastorno | Referencia |
|--|--------------------|--|------------|
| 15 pacientes, 22-72 años | 172.0±3.2 ng/dl | Presentan síntomas depresivos 30±7 puntos en la escala de Hamilton | 46 |
| 13 pacientes, 60-67 años | 429.2 ng/dl | Depresión mayor 20.9 puntos en la escala de Hamilton | 47 |
| 51 pacientes, 41.6±1.1 años infectados con VIH | 427±34 ng/dl | Depresión mayor 15.5±1.1 puntos en la escala de Beck | 16 |

Las escalas de Beck o Hamilton son instrumentos diagnósticos que detectan la severidad de los trastornos depresivos. Los puntajes mostrados en esta tabla son indicadores de un trastorno depresivo mayor. La concentración de T reportada para estas poblaciones se encuentra por debajo del límite considerado normal.

2.1.2 Hipótesis sobre la depresión

La primera hipótesis que surge explicando las bases biológicas de la depresión fue la **hipótesis monoaminérgica**, la cual consideraba que la deficiencia de neurotransmisores monoaminérgicos, tales como NA y 5-HT, provocaba un estado depresivo. Esta hipótesis se basó en la observación de que pacientes hipertensos, que recibieron como tratamiento con reserpina (un antihipertensivo), mostraban síntomas depresivos. La reserpina provoca la depletación de las monoaminas de las vesículas sinápticas, lo que condujo a sugerir que la depresión observada en estos pacientes era resultado de una reducción de la concentración de 5-HT, NA o ambas⁽⁵¹⁾. La hipótesis monoaminérgica cayó en desuso ya que los tratamientos antidepresivos rápidamente provocan aumento de la concentración plasmática y cerebral de monoaminas, en controversia con el retardo terapéutico de la depresión.

Posteriormente, los estudios de biología molecular demostraron que los cambios en los niveles de neurotransmisores modifican a los receptores, así como a otras proteínas involucradas en la señalización celular. Así, la teoría de receptores propone que es necesario que ocurra una serie de cambios adaptativos en la sensibilidad de los receptores en respuesta al incremento de las monoaminas, partiendo de la idea que durante el estado depresivo la sensibilidad de los mismos se encuentra alterada^(6,7). Por ejemplo, en caso del sistema serotoninérgico se ha propuesto que es necesaria la desensibilización del receptor 5HT_{1A} pre- y post-sináptico^(2,28,29) y la sensibilización del receptor 5-HT_{2A}⁽²⁷⁾; mientras para el sistema noradrenérgico se requiere de la desensibilización de los receptores presináptico α_2 ^(2,36)

Las dos hipótesis anteriores no explican totalmente el retardo en la aparición del efecto antidepresivo, por lo que surgió la hipótesis neurotrófica^(6,7,8) (ver figura 2) en la cual se propone que además de los cambios en los niveles de monoaminas y en la sensibilidad de los receptores, es necesario que se den cambios en los sistemas de transducción de señales, en respuesta a la estimulación de los receptores respectivos. Dichos cambios activan la síntesis de factores neurotróficos, como neurotrofinas I y III, NGF y BDNF. Esto en conjunto, conduce a la formación de nuevas espinas dendríticas y conexiones sinápticas, lo que finalmente repercute en la conducta del individuo y permite que se adapte a las condiciones del medio ambiente.

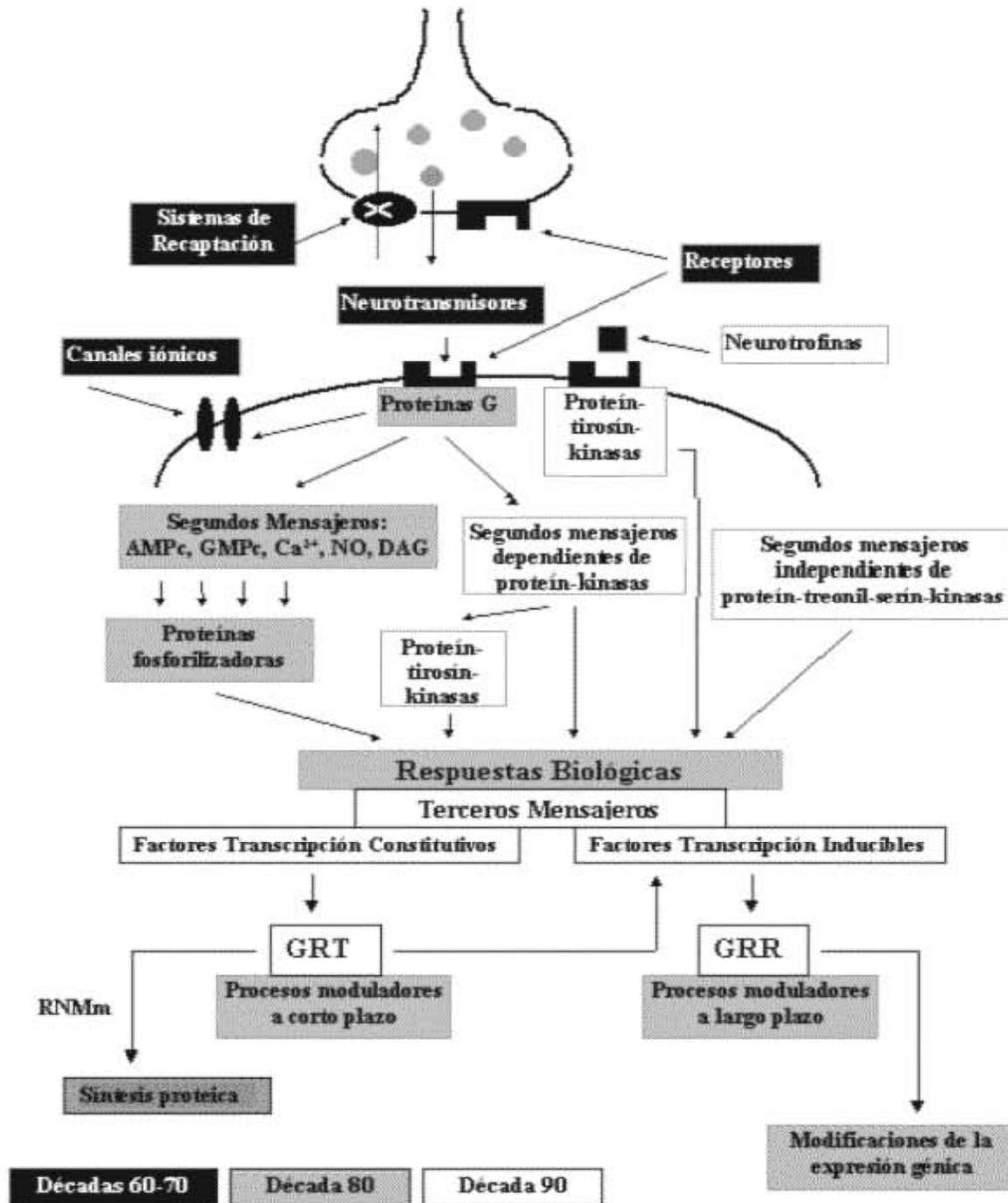


Figura 2. Esquema que involucra los diferentes elementos extracelulares e intracelulares que participan en la depresión. A lo largo de 50 años las hipótesis para explicar la depresión han evolucionado desde la monoaminérgica hasta la neurotrófica (figura adaptada de 6,7 y 8)

2.2 Sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos

2.2.1 Serotonina

La 5-HT es sintetizada a partir del aminoácido triptofano, que proviene de la dieta alimentaria y es capturado en las neuronas por un transportador de la membrana plasmática, e hidroxilado en una reacción catalizada por la enzima triptofano 5-hidroxilasa (ver figura 3). Esta reacción es el paso limitante de la velocidad de síntesis de la 5-HT.

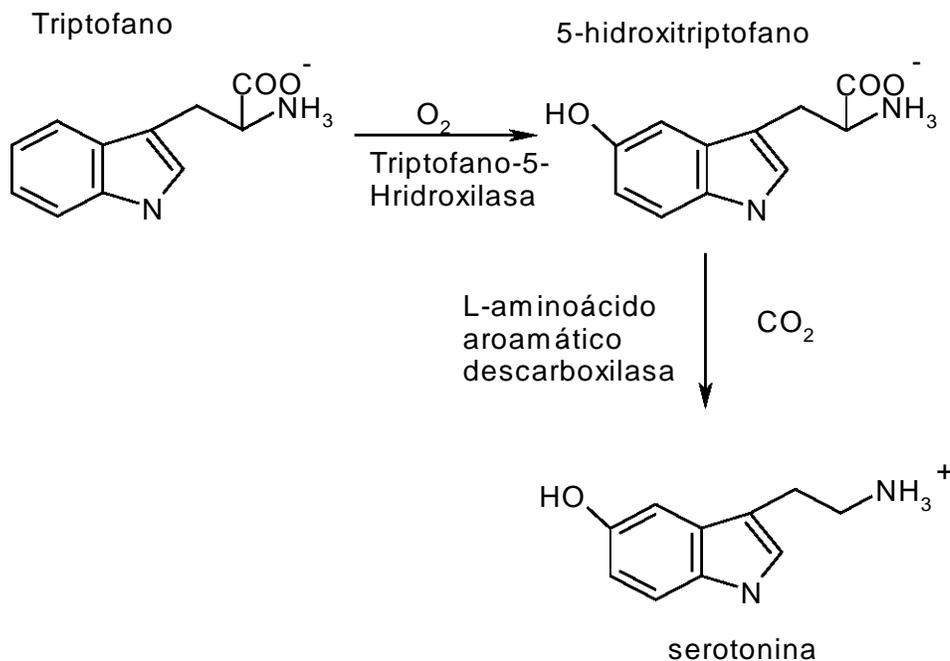


Figura 3. Síntesis del neurotransmisor serotonina (modificada de42).

La 5-HT es un neurotransmisor que pertenece al tipo de las indolaminas, y que está presente en la sangre y el cerebro. La 5-HT cerebral es sintetizada en grupos discretos de neuronas localizados en los núcleos del rafe y en la región reticular del tallo cerebral. A partir de estas áreas nacen fibras que llegan a prácticamente todo el SNC y SNP (ganglios basales, hipotálamo, tálamo, hipocampo, sistema límbico,

corteza cerebral, cerebelo y médula espinal). Las regiones anteriores proyectan hacia las partes rostrales, mientras que las posteriores envían sus fibras hacia las áreas del tallo cerebral y la médula espinal ⁽¹²⁾.

En la actualidad, se han agrupado 5 familias de receptores a 5-HT, que van de la 5-HT₁₋₄ y 5-HT₇. La familia de los receptores 5-HT₁₋₂, 5-HT₄₋₇, están acoplados a proteínas G; los receptores están formados por 7 dominios transmembranales, e incluyen isoformas múltiples dentro de cada familia. Los receptores 5-HT₃ son los únicos que no están acoplados a proteínas G, son canales iónicos de compuerta. El subgrupo de receptores 5-HT₁ está compuesto por lo menos por 5 subtipos de receptores sin intron (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1d}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}), acoplados negativamente a la adenilato ciclasa, o con la regulación de los canales de K⁺ o Ca²⁺. Los receptores 5-HT_{1A} se expresan con abundancia en las neuronas de 5-HT del núcleo del rafe dorsal, donde se cree, participan en la regulación de la temperatura; se encuentran también en las regiones del SNC relacionadas con el estado de ánimo y la ansiedad, como el hipocampo y la amígdala⁽¹⁷⁾.

A diferencia de los receptores 5-HT₁, los subtipos de receptores 5-HT₂ (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}) contienen intrones y todos están relacionados con la activación de la fosfolipasa C. Los receptores 5-HT_{2A} se localizan en las regiones del prosencéfalo, como la neocorteza y el tubérculo olfatorio, lo mismo que en diversos núcleos que se originan en el tallo encefálico. Los receptores de la clase 5-HT₃ se reconocieron por primera vez en el SNP. Se expresan también en el encéfalo dentro del área postrema y el núcleo del tracto solitario. La activación del receptor 5-HT₃ incrementa las corrientes de Na⁺ y K⁺, pero parece afectar también la permeabilidad al Ca²⁺.

La 5-HT es el neurotransmisor filogenéticamente más antiguo, y regula múltiples funciones en el organismo de los vertebrados en los que funciona como factor trófico

de neuronas de otros neurotransmisores. El sistema serotoninérgico modula una variedad de funciones fisiológicas tales como regulación de la temperatura, el estado de ánimo, el apetito, el sueño, los impulsos, el ciclo menstrual en las mujeres, y el interés sexual ⁽¹⁵⁾.

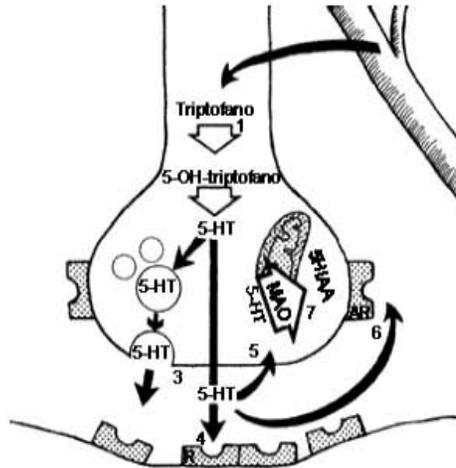


Figura 4. Esquema de una sinapsis serotoninérgica (tomada de 12).

2.2.2 Noradrenalina

La NA es una catecolamina que se utiliza como neurotransmisor en el SNC, y podemos decir que la masa más compacta y densa de neuronas adrenérgicas la constituye el *locus coeruleus*, localizado en el tallo cerebral. La síntesis de la NA requiere de dopamina β -hidroxilasa, la cual cataliza la producción de NA a partir de la DA. La NA se biosintetiza a partir del aminoácido tirosina, por acción de la tirosina hidroxilasa, produciéndose la dopa la cual, mediante la dopa descarboxilasa se convierte en DA, la primera de las catecolaminas. La DA por hidroxilación con la β hidroxilasa se transforma en NA (ver figura 5).

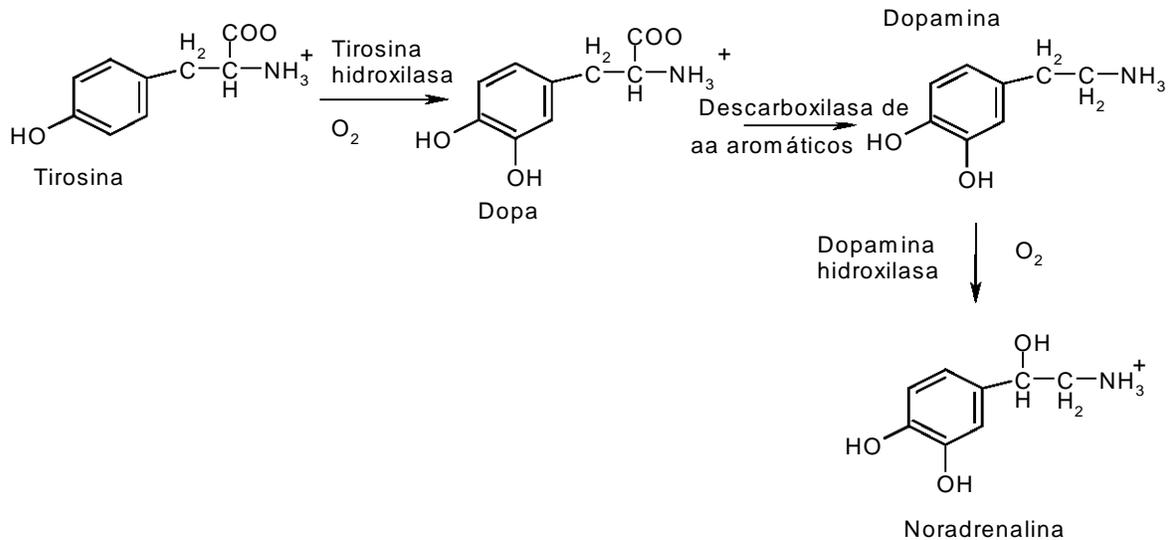


Figura 5. Síntesis de noradrenalina (modificada de 42).

Precisamente es desde el *locus coeruleus*, y también desde otras áreas noradrenérgicas inferiores 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 especial implicación en el nivel de actividad córtico-subcortical precisamente por su proyección a la corteza, al sistema límbico (hipocampo, amígdala y septum) y al diencéfalo, (tálamo e hipotálamo). Asimismo, se proyectan descendentemente a la formación reticular de la médula, con lo que su principal papel estriba en la regulación de los niveles de vigilancia y, particularmente, en la actividad mínima de la vigilia, definiendo claramente los niveles de atención, emoción e hiperexcitabilidad; por lo que su repercusión conductual es tremendamente significativa, si bien es cierto que la división simpática del sistema nervioso autónomo también tiene una especial relevancia ⁽⁵²⁾.

Se han determinado dos tipos de receptores adrenérgicos; los α - y los β -adrenérgicos. Los receptores α se dividen en α_1 , y éstos a su vez en α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} ; los receptores α_1 se localizan en la post-sinapsis en tanto que los α_2 se encuentran en la pre-sinapsis (autorreceptores) y también en la post-sinapsis, cuando se activan los receptores α_1 estimulan la formación de IP₃ y la formación de Ca²⁺ intracelular, en cambio al estimular los receptores α_2 disminuyen la formación de AMPc. Por su parte, los receptores β se dividen en β_1 , β_2 y β_3 y todos se localizan en la post-sinapsis, al estimular receptores β se incrementa la formación de AMPc ⁽⁵²⁾

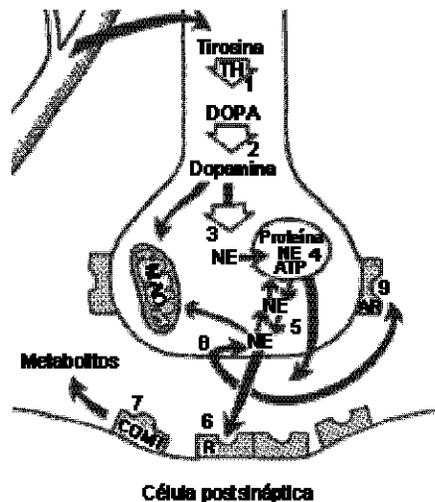


Figura 6. Esquema de una sinápsis noradrenérgica (Tomada de 12).

2.3 Fármacos antidepresivos

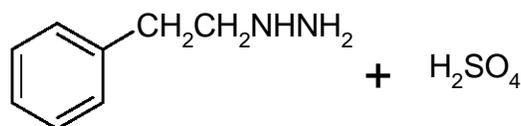
Los agentes antidepresivos abaten los síntomas provocados por los trastornos depresivos. En la actualidad, se dispone de varios agentes antidepresivos eficaces que difieren considerablemente en sus propiedades químicas y farmacológicas. Uno de los métodos utilizados para clasificar estos compuestos consiste en combinar criterios químicos y farmacológicos, agrupando a los antidepresivos en cuatro categorías principales: 1) inhibidores de la MAO, sobre la base del efecto farmacológico; 2) antidepresivos tricíclicos, sobre la base de los tres anillos presentes en la estructura química; 3) ISRS, sobre la base del mecanismo de acción farmacológico; 4) antidepresivos heterocíclicos, es decir, todo fármaco que no puede ser clasificado en ninguna de las tres categorías anteriores (ver esquema 1).

2.3.1. Inhibidores de la monoamina oxidasa

En 1951, se desarrollaron la isoniazida y su derivado isopropílico iproniazida, para el tratamiento de la tuberculosis. Se observó que la iproniazida tenía efectos que aumentaban el estado de ánimo en los pacientes tuberculosos ⁽¹⁷⁾. En 1952, Zeller y colaboradores descubrieron que la iproniazida, a diferencia de la isoniazida, era capaz de inhibir a la enzima MAO, que es la que degrada a las monoaminas. Después de estas investigaciones, la iproniazida empezó a utilizarse para el tratamiento de los pacientes deprimidos.

La iproniazida, junto con los primeros IMAOs (fenelzina y tranilcipromina), se caracterizan por inhibir de forma irreversible a las dos isoformas de la MAO, lo que los hace no selectivos. Estas características hacen que tengan un margen de seguridad reducido y que sólo sean recetados a pacientes internados o estrechamente vigilados, que no responden a otros agentes antidepresivos.

Los IMAOs de más reciente síntesis, como moclobemida y amiflamina, se unen de forma reversible a la isoforma A de la MAO, lo que les confiere una mayor aplicación para los pacientes ambulatorios ^(51,52).



sulfato de fenzelina

Figura 7. La fenzelina es un IMAO con escasas propiedades sedantes y antimuscarínicas (modificada de 58)

2.3.2. Antidepresivos tricíclicos

Este grupo de antidepresivos se clasifica así por tener tres anillos en su estructura química, tienen afinidad por receptores adrenérgicos (antagonistas α_1), muscarínicos e histaminérgicos (antagonistas H1). Estos fármacos actúan principalmente bloqueando la recaptura de serotonina o de noradrenalina ⁽⁵²⁾. Los compuestos antidepresivos tricíclicos (amitriptilina, clorimipramina, desipramina, doxepina, imipramina, nortriptilina, proriptilina y trimipramina) generalmente producen efectos ansiolíticos y sedantes.



Figura. 8. La DMI es un antidepresivo tricíclico con efectos sedantes y antimuscarínicos (modificada de 58).

2.3.3 Inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT

Los ISRS (FLX, paroxetina, citalopram y sertralina) son los agentes antidepresivos utilizados con mayor frecuencia en la actualidad. Por lo general estos fármacos se asocian con una menor incidencia de efectos adversos, sobre todo si se los compara con los antidepresivos tricíclicos y los IMAO. Algunos de los efectos adversos relacionados con los ISRS se deben con la capacidad de estos compuestos de aumentar los niveles sinápticos de 5-HT.

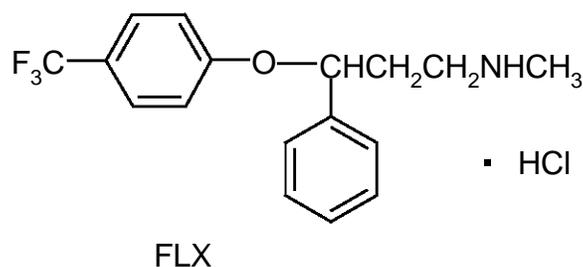


Figura 9. La FLX es un ISRS indicado para el tratamiento de la depresión, los trastornos obsesivo-compulsivos y la bulimia nerviosa (modificada de 58).

El mecanismo de acción de los ISRS se da en varios niveles: al inicio del tratamiento los ISRS bloquean al transportador de 5-HT inhibiendo la recaptura del neurotransmisor, y aumentando los niveles de 5-HT en la región somatodendrítica de las neuronas. Después de un tiempo, el aumento sostenido de 5-HT provoca la desensibilización de los receptores somatodendríticos 5-HT_{1A} y de los autorreceptores 5-HT_{1B}, facilitando la liberación de 5-HT en la terminal sináptica y, finalmente el aumento en los niveles de 5-HT en el espacio sináptico lleva a cambios en los receptores post-sinápticos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} ^(51,52).

Sumando al mecanismo de la regulación de la transmisión serotoninérgica de los ISRS, diferentes grupos de investigación han propuesto otro mecanismo colateral por el cual

FLX podría producir acciones antidepresivas. Este involucra el incremento de la concentración de pregnanos cerebrales derivados de la progesterona, principalmente del metabolito 3α - 5α -reducido ALO^(49,18). A éste y otros pregnanos sintetizados en el cerebro se les conoce como neuroesteroides. Este término fue propuesto en 1981 por E.E. Baulieu y se refiere a aquellos esteroides que se sintetizan en el SNC como: PROG, ALO (ver figura 11), PREG, sulfato de PREG, DHEA, a partir del colesterol y de manera independiente de los precursores gonadales, y que tienen acciones sobre el mismo SNC⁽¹⁸⁾. De forma interesante la FLX es el ISRS que selectivamente promueve el incremento de ALO cerebral, ya que éste se produce en menor escala con paroxetina (otro ISRS) y no se presenta con la administración de imipramina, un antidepresivo que inhibe la recaptura de 5-HT y NA⁽⁵⁶⁾. Se ha demostrado que este incremento en la ALO se debe a cambios en su metabolismo, específicamente por acelerar la reducción de DHP a ALO o por inhibición de la oxidación de ALO a DHP⁽⁵⁶⁾.

En clínica se ha observado que en pacientes con desorden depresivo mayor el tratamiento con FLX promueve aumento de la concentración plasmática de los pregnanos 3α , 5α -THP, 3α , 5β -THP, y disminución del 3β , 5α -THP⁽⁵³⁾. Los dos primeros son considerados moduladores positivos del receptor GABA_A (ver anexo IV), en tanto que el último es considerado modulador negativo de este receptor. Por lo tanto se propone que en la depresión hay un desequilibrio entre los neuroesteroides que es recuperado por el tratamiento con FLX.

2.3.4. Inhibidores selectivos de la recaptura de NA

En este grupo de fármacos se encuentra sólo un compuesto, el bupropión que es el único capaz de actuar selectivamente sobre la recaptura de NA y DA. Se ha propuesto que este compuesto incrementa los niveles de catecolaminas en áreas donde supuestamente existen deficiencias en los niveles de NA y de DA; los efectos colaterales que presentan con el bupropión son: insomnio, náusea, dolor de cabeza, entre otros ⁽⁵²⁾.

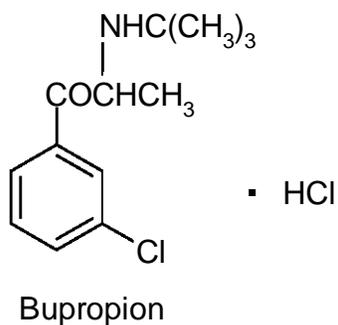
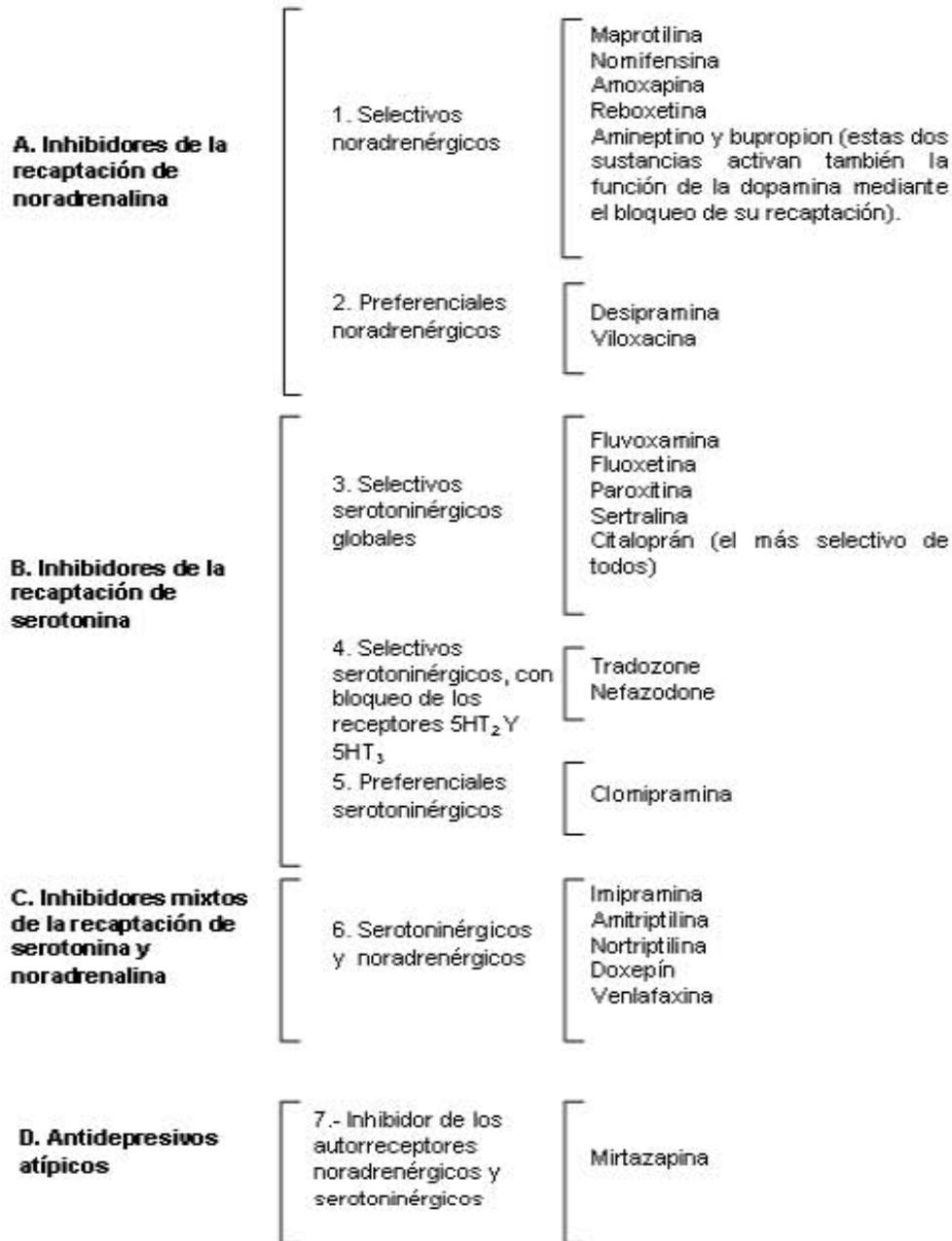


Figura 10.El bupropion es un antidepresivo heterocíclico (modificada de 58)

Clasificación de antidepresivos



Esquema 1. Clasificación general de fármacos antidepresivos basada en su mecanismo de acción primario. (modificada de 52).

2.4 Hormonas Gonadales

Las hormonas gonadales son uno de los componentes fundamentales del sistema endocrino. La importancia de las mismas puede inferirse de su amplia distribución en los seres vivos. El núcleo básico de los esteroides son cuatro anillos aromáticos: tres ciclos hexanos (A,B,C) y un ciclo pentano (D). Toda la molécula es conocida como ciclopentanoperhidrofenantreno (ver figura 11). Sobre este núcleo se agregan cadenas laterales que determinan las distintas clases de esteroides ⁽³⁹⁾.

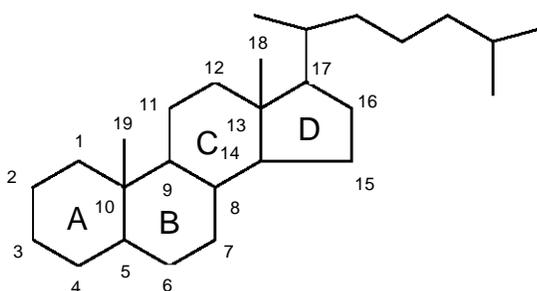


Figura 11. Estructura del ciclopentanoperhidrofenantreno (modificada de 39)

El colesterol es el precursor de las hormonas esteroides, las cuales derivan de una serie de reacciones que involucran la escisión de los residuos en la cadena lateral del colesterol, para dar origen a la pregnenolona, la cual va seguida por diversas modificaciones, que incluyen hidroxilaciones, mas reacciones de escisión y la modificación de las estructuras anulares ⁽³⁰⁾ (ver fig 12).

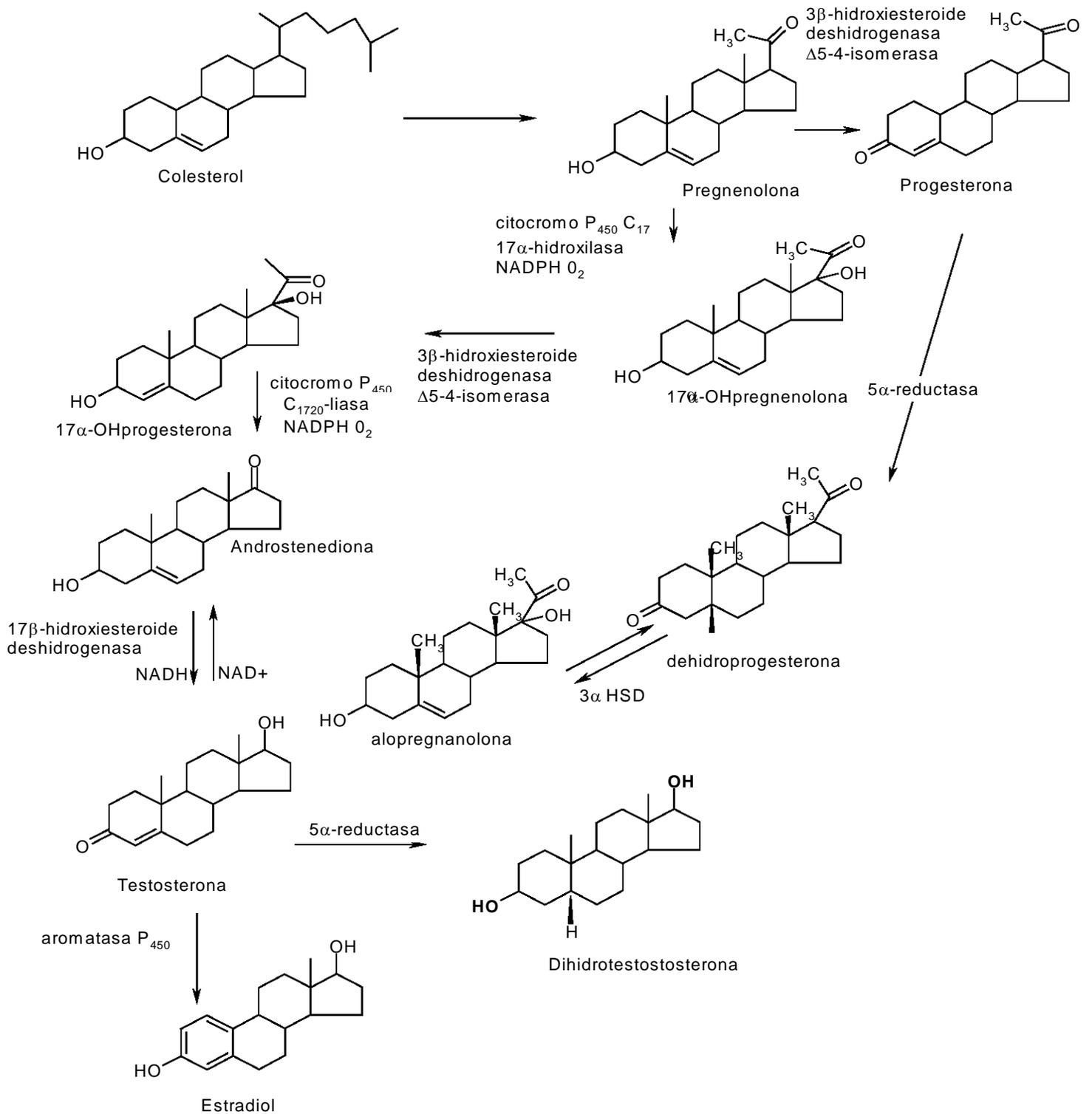


Figura 12. Síntesis de algunos esteroides a partir del colesterol. El colesterol da origen a las progestinas, que posteriormente son convertidas en andrógenos; la testosterona puede ser aromatizada a estradiol o reducida a dihidrotestosterona (modificada de 39).

2.4.1 Testosterona

Los testículos secretan varias hormonas sexuales que se llaman de manera colectiva andrógenos, e incluyen T, DHT y androstenediona. Sin embargo, la abundancia de la T es tan grande en relación con las otras, que puede considerarse la hormona testicular más importante.

La T se forma en las células intersticiales de Leyding, que se encuentra en los intersticios entre los túbulos seminíferos y constituyen cerca de 20% de la masa del testículo adulto. Las células de Leyding son casi inexistentes durante la infancia, pero son numerosas en el varón neonato y en el adulto en cualquier momento después de la pubertad⁽¹⁷⁾.

La secreción de la T y otras hormonas gonadales se produce por activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. El hipotálamo controla, tanto en el hombre como en la mujer, la secreción de la LHRH, que a través del sistema portal hipotálamo-hipófisis estimula dos hormonas gonadotrópicas distintas, la LH y la FSH. En el hombre la LHRH tiene un efecto especialmente enérgico para inducir la secreción de la LH, que finalmente estimula la secreción de T.

La regulación entre la síntesis y liberación de T se establece por un mecanismo de retroalimentación negativa. Este queda evidenciado cuando en animales a los que se les administro el andrógeno, se inhibe intensamente la secreción de LH, pero sólo muy poco la producción de FSH. Esta inhibición depende de la función normal del hipotálamo; por tanto es obvio que el sistema de control por retroalimentación negativa funciona de manera continua para controlar con gran exactitud la secreción de T:

- 1.- El hipotálamo secreta la LHRH, que estimula la hipófisis anterior para que secrete hormona luteinizante.

2.- La LH estimula la hiperplasia de las células de Leyding de los testículos y la producción de T por estas células.

3.- La T, a su vez, causa retroalimentación negativa en el hipotálamo, lo que inhibe la producción de LHRH. Este evento limita la velocidad con que se produce la T.

La concentración plasmática de T en varones es relativamente alta durante tres periodos de la vida: la T empieza a aumentar en embriones masculinos alrededor de la octava semana de desarrollo y declina antes del nacimiento; un nuevo incremento se produce en el transcurso del periodo neonatal y después disminuye durante el primer año de edad hasta cifras pre-puberales. En el momento de la pubertad masculina, la hipófisis empieza a secretar grandes cantidades de las gonadotropinas que inducen la secreción de T; inicialmente, éstas se secretan de forma cíclica y sincrónica con el ciclo de sueño; conforme progresa la pubertad, sobreviene la secreción pulsátil de gonadotropinas durante el sueño y periodos de vigilia ⁽¹⁵⁾.

2.4.2 Metabolismo de la T

Después de la secreción de T por los testículos, la mayor parte de la hormona se fija a la albúmina plasmática o a una β -globulina llamada globulina gonadal fijadora de esteroides, y circula en la sangre durante 15 a 30 minutos. En este momento queda fija en los tejidos o se degrada hasta productos inactivos que son posteriormente excretados ⁽¹⁹⁾.

Gran parte de la T que queda fija en los tejidos es convertida, dentro de las células, en DHT, y cantidades menores, en 5- α -androstaneol, sobre todo en ciertos órganos blancos, como la próstata en el adulto y los genitales externos del varón fetal. Algunas acciones de la T dependen de esta conversión en tanto que otras no. La T

que no es fijada por los tejidos se transforma con rapidez en androsterona y dihidroepiandrosterona, que son conjugadas como glucurónidos o sulfatos, y excretadas al intestino con la bilis o a la orina ⁽¹⁵⁾.

Además de la T, el varón produce pequeñas cantidades de estrógeno (casi 20% de lo que produce la mujer), los estrógenos se forman a partir de la T y la androstendiona en otros tejidos del organismo por la aromatización del anillo A ⁽⁴⁵⁾. En especial el hígado constituye el sitio donde se lleva a cabo hasta el 80% de la producción total de estrógenos, aunque el cerebro de los mamíferos también contiene enzimas que sintetizan estradiol a partir de T ⁽²²⁾ (ver fig. 13).

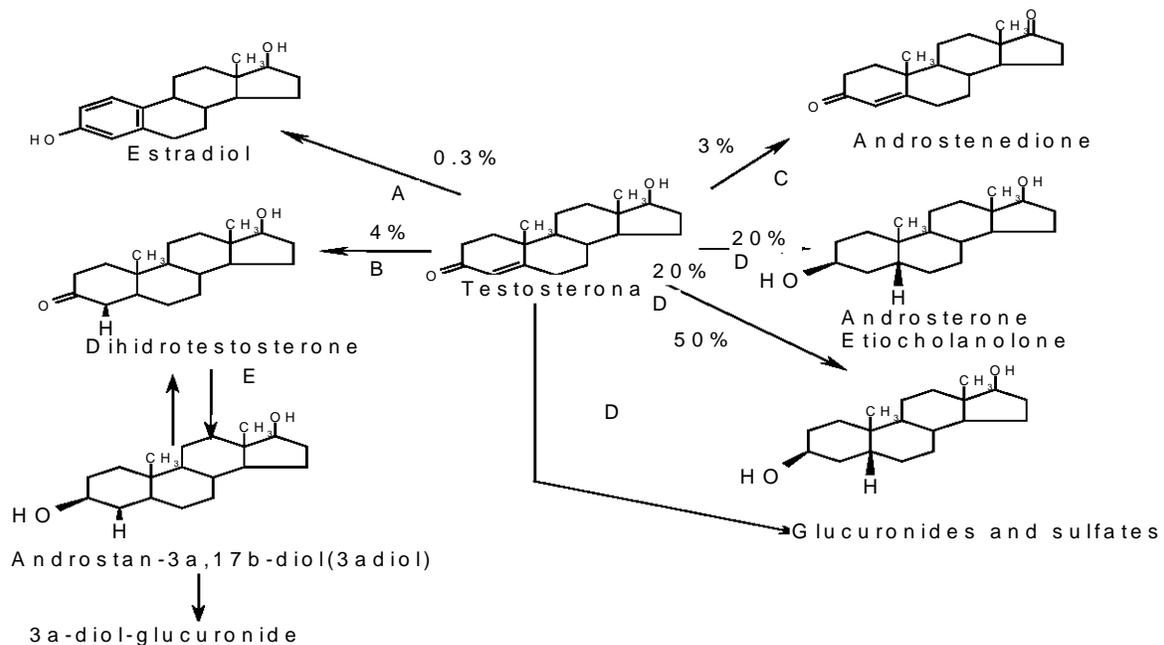


Figura 13. Metabolismo de T(modificada de 39)

2.4.3 Mecanismo de acción de T y otras hormonas esteroides

La T y los andrógenos atraviesan fácilmente la membrana celular y se unen a receptores intracelulares específicos de la superfamilia de receptores de hormonas esteroides y tiroideas. Estos receptores que han sido purificados, son proteínas con un peso molecular de aproximadamente 120 kilodaltons. Su síntesis está determinada genéticamente en el cromosoma X.

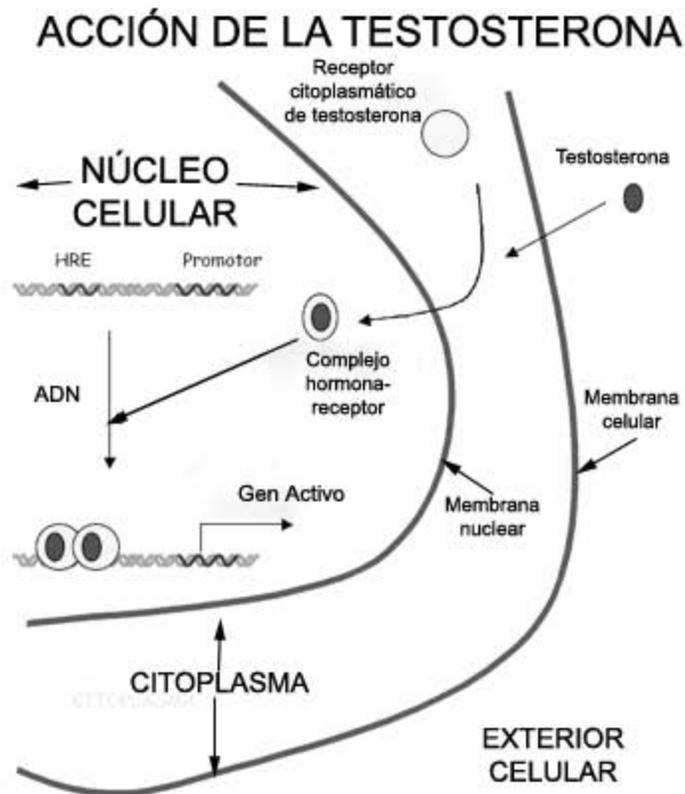


Fig 14. El **complejo receptor-esteroide** se activa y es transportado al núcleo celular y se une en un sitio receptor del ADN, aumentando la actividad de la ARN polimerasa y la formación de ARN mensajeros estimulando la síntesis de proteínas celulares responsables finales de las acciones fisiofarmacológicas⁽³⁹⁾.

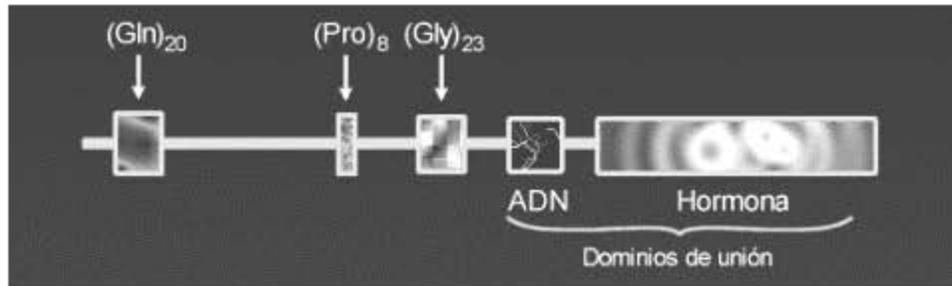


Figura 15. Diagrama del receptor de andrógenos. El receptor de andrógenos humano es un miembro característico de la superfamilia de receptores de hormonas esteroides y tiroideas. Está codificado por un gen sobre el cromosoma X y contiene dominios de unión a andrógeno, de unión a DNA y funcionales (tomado de 17)

2.4.4. Funciones de la T en el organismo

La T es una hormona sexual que produce diversos efectos en numerosos tejidos del cuerpo, incluyendo al cerebro (ver figura 10). La T es causa de que al mismo tiempo se desarrollen los caracteres sexuales secundarios del varón, que empiezan en la pubertad y terminan en la madurez como:

1. Incremento de la masa muscular (acción anabólica)
2. Proliferación de las glándulas sebáceas. La aparición de acné puede relacionarse con este efecto.
3. Engrosamiento de la piel.
4. Hipertrofia de la laringe y producción de una voz grave permanente.
5. Distribución del vello masculino en: pubis, tronco, extremidades y barba. La testosterona tiene una relación determinada genéticamente con la aparición de calvicie en el hombre.

6. Aumento del ritmo de crecimiento de los huesos largos en la pubertad, y aumento de estatura.
7. Cierre de las placas epifisarias y cartílago de conjunción.
8. Comportamiento más agresivo y mayor vigor físico y muscular en el hombre que en la mujer.
9. Las acciones anabólicas son también evidentes en otros órganos y sistemas: hígado, riñón, corazón, médula ósea, etc (ver fig. 16).

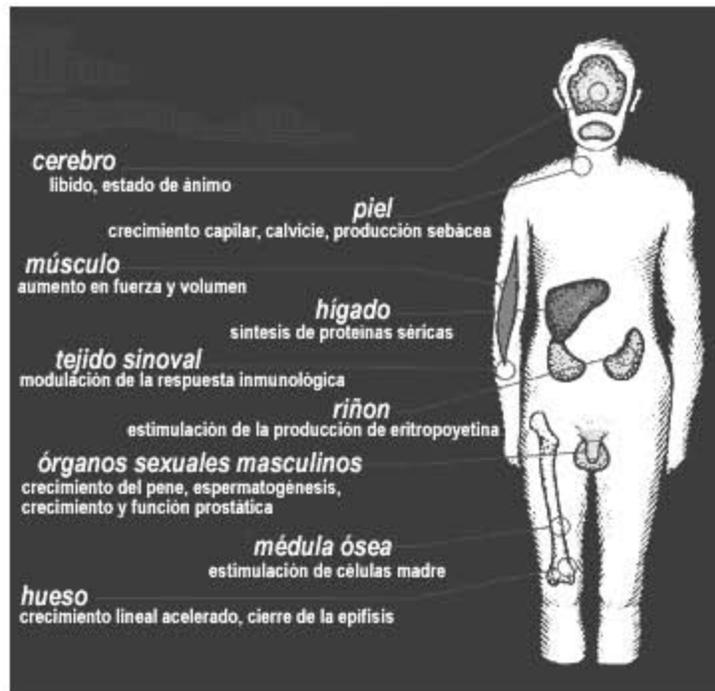


Figura16. Función de la testosterona en el hombre (Tomada de 15).

La T también cumple funciones en el SNC, ya que esta hormona regula la libido y la motivación sexual tanto en el hombre como en la mujer, y participa en el control de las emociones y la agresión. Los cambios en las concentraciones plasmáticas de T u otros andrógenos se asocian con alteraciones psiquiátricas que

van desde depresión, en pacientes con hipogonadismo, hasta crisis de ansiedad y episodios de agresión y psicosis en consumidores de andrógenos anabólicos ⁽³³⁾.

2.4.5 Estrógenos

Los estrógenos son sintetizados a partir del colesterol (Ver fig 8) pero también pueden derivarse en menor cantidad a partir de la acetilcoenzima A, de la que pueden combinarse moléculas múltiples para formar el núcleo esteroide apropiado. Los estrógenos se transportan en la sangre fijos principalmente a albúmina plasmática, aunque se fijan también pequeñas cantidades en globulinas específicas fijadoras de esta hormona ⁽³⁹⁾.

El hígado conjuga los estrógenos para formar glucuronatos y sulfatos; cerca de la quinta parte de estos productos conjugados se excretan en la bilis, en tanto que el resto lo hacen por la orina. Además, el hígado convierte los estrógenos más potentes, E₂ y estrona, en el estrógeno casi inactivo estriol ⁽³⁹⁾.

En condiciones normales en la mujer, el ovario es el principal origen de los estrógenos. Este órgano también produce y secreta cantidades grandes de progesterona durante la fase lútea del ciclo menstrual. Así mismo, origina cantidades pequeñas de T y otros andrógenos que sirven no sólo como precursores de la síntesis de estrógenos, sino que además se liberan de la circulación para actuar en los tejidos periféricos. Los estrógenos se requieren para la maduración normal de la mujer: estimulan la maduración de la vagina, el útero y las trompas uterinas en la pubertad, así como las características sexuales secundarias. Así mismo, inducen el desarrollo estrógeno y el crecimiento de los conductos en las mamas, y causan la fase del crecimiento acelerado en la pubertad; alteran además, la distribución de la grasa

corporal para producir el contorno típico del cuerpo femenino, que incluye cierta acumulación de grasa alrededor de las caderas y mamas ⁽¹⁵⁾.

Los estrógenos pueden tener muchos otros efectos. Son causantes del comportamiento de los animales durante el estro e influyen sobre la libido en humanos ⁽¹⁵⁾. Estas y otras acciones son producidas por la unión de los estrógenos a receptores intracelulares (citosólicos o nucleares), que se presentan como dos isoformas (α y β), y que tienen diferentes distribución en los tejidos del organismo ⁽¹⁵⁾.

2.4.6 Efectos de E₂ en el hombre.

Aunque T es la principal hormona sexual en el hombre, el E₂, también se forma y se encuentra presente en cantidades significativas. Una fracción pequeña de la producción diaria de E₂ (aproximadamente el 20%) es proporcionada por la secreción testicular de las células de Leydig y de Sertoli, así como de las células germinales. El resto se deriva de la aromatización de andrógenos circulantes (T y androstenediona) en tejidos finos periféricos. Esta conversión periférica ocurre en la presencia de la enzima aromatasa sobre todo en tejido adiposo, piel y músculo, así como en el tejido fino del hueso y del cerebro. La enzima aromatasa es un producto del gene de CYP 19, y un miembro de la superfamilia citocromo P450 ^(43,45).

El tratamiento con estrógenos en hombres fue utilizado a partir de los años 40 del siglo pasado, partiendo de las observaciones hechas por Huggins, Stevens y Hodges (1941), quienes encontraron que la orquidectomía bilateral disminuía el dolor óseo y los síntomas neurológicos en hombres con cáncer metastático de la próstata. La terapia con DES, un estrógeno sintético no esterooidal, se convirtió por lo tanto en el estándar para alcanzar la castración médica en hombres con este tipo de cáncer. Sin embargo, la alta toxicidad producida por el tratamiento (DES a 5 mg/d) fue un efecto colateral no esperado. Las investigaciones posteriores que utilizaron DES en dosis

bajas o moderadamente altas reportaron resultados tóxicos similares y pocos efectos benéficos del tratamiento, por lo que éste cayó en desuso ⁽⁴⁵⁾.

Recientemente, aunque la terapia con estrógenos no se utiliza en hombres con padecimientos prostáticos, se ha descubierto que estos esteroides influyen en un sin número de funciones (ver tabla 2) antes atribuidas a los andrógenos, por ejemplo el cierre de las placas epifisarias y cartílago de conjunción que detienen el crecimiento, y la reabsorción de hueso en hombres de edad avanzada. Este papel fue puesto al descubierto con la demostración de la participación de dos diferentes tipos de receptores a estrógenos así como su ubicación en tejidos periféricos y centrales ⁽⁴⁵⁾.

Tabla 2. Función de E₂ en el hombre (modificado de 45)

| Sitio de expresión del receptor | Receptor | Posible función de E ₂ en el sitio | Expresión local de aromatasa |
|----------------------------------|-------------------------|--|------------------------------|
| Varias regiones del cerebro | ER α /ER β | Masculinización del cerebro Conducta sexual | si |
| Glándula pituitaria | ER α /ER β | Modulación de la secreción de la hormona pituitaria, inhibición de secreción de gonadotropina | si |
| Células del sistema inmune | ER α /ER β | Modulación de la función de células | si |
| Corazón y sistema cardiovascular | ER α /ER β | Inmune, múltiples acciones sobre músculo esquelético, promueve la vaso dilatación y cambios cardioprotectores. | si |
| Hueso | ER α | Crecimiento del hueso y mineralización inhibición de la reabsorción de hueso | si |
| Tejido adiposo | ER α /ER β | Función probable en el deposito de grasa y acción probable en la lipólisis | si |
| Músculo | ER β | | si |
| Sistema reproductivo | | | |
| Células de Leyding | ER α /ER β | Diferenciación celular de Leyding | si |
| Células de Sertoli | ER β | Interacción entre las células de germinales de Sertoli | si |
| Espermatogonia/espermatocitos | ER β | | si |
| Próstata | ER β | Interacción entre el estroma y epitelio crecimiento celular de estroma | si |
| Vesículas seminales | ER β | | |

2.4.7 Andrógenos en los trastornos psiquiátricos

En el hombre, el decline en los niveles circulantes de T está asociado a alteraciones somáticas y psiquiátricas, tales como pérdida de masa muscular y de fuerza, disminución del deseo sexual, estado de ánimo bajo, irritabilidad y ansiedad ^(33,35). De forma interesante, la disminución de los niveles plasmáticos de andrógenos en patologías como hipogonadismo, VIH y leucemia o por cambios fisiológicos relacionados con la edad, se asocia con un estado de ánimo deprimido ^(35,46,57,60). El tratamiento con T o andrógenos anabólicos revierte la depresión de manera similar a como lo hacen los fármacos antidepresivos, sin embargo, estos resultados no son concluyentes debido a características particulares de las muestras de estudio ^(40, 47,57). De forma interesante, se ha demostrado que en algunos pacientes hipogonadales resistentes al tratamiento con terapias farmacológicas antidepresivas la administración de T permite el efecto de éstos fármacos ^(40,47). Se desconoce si este efecto facilitador de la T se debe a ella misma o a metabolitos de esta hormona.

Los mecanismos de acción de la T como reguladores del estado de ánimo han sido explorados recientemente utilizando modelos animales de trastornos psiquiátricos. En estos experimentos se ha encontrado que la testosterona produce efecto ansiolítico en ratas castradas ⁽¹³⁾, un modelo animal que semeja a humanos hipogonadales, pero carece de propiedades antidepresivas ⁽³⁴⁾. Este efecto sobre la reducción de la ansiedad es propiciado por la unión del andrógeno con receptores a andrógenos, intracelulares, descartándose la participación de uno de los sistemas más involucrado en la ansiedad, el GABA-benzodacepínico ⁽¹³⁾. En la interacción de andrógenos con fármacos ansiolíticos, se ha encontrado que la ausencia de andrógenos por castración incrementa la sensibilidad de respuesta a las benzodiacepinas ⁽¹³⁾, pero reduce la sensibilidad para responder a antidepresivos

como desipramina y fluoxetina ⁽³⁴⁾. La restitución con T en dosis consideradas fisiológicas restablece la respuesta a los ansiolíticos y a la desipramina, pero no a la FLX, lo que sugiere que, o bien la concentración fisiológica de T no es suficiente para recuperar el efecto de fluoxetina, o que otras hormonas derivadas de T podrían participar en el efecto de los antidepresivos en la rata.

4. Hipótesis

La T regula el efecto de los fármacos antidepresivos serotoninérgicos y noradrenérgicos mediante su conversión a su metabolito aromático E₂.

Si el E₂ participa en el efecto de los antidepresivos DMI y FLX en machos, entonces este estrógeno media las acciones de T como modulador del efecto de DMI y FLX.

5. Objetivo General

Analizar la participación del estrógeno E₂ en el efecto de fármacos antidepresivos.

5.1 Objetivos específicos o particulares

1. Explorar si la T y el E₂ producen un efecto semejante al de los fármacos antidepresivos en ratas macho orquidectomizadas.
2. Explorar si la orquidectomía modifica el efecto antidepresivo de DMI y FLX.
3. Analizar si la T participa en el efecto de los antidepresivos DMI y FLX.
4. Analizar si el E₂ participa en el efecto de los antidepresivos DMI y FLX.

6. Material y Métodos

6.1 Sujetos experimentales

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del INPRF, y el manejo de los animales se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

En todos los experimentos se utilizaron ratas macho adultas, de la cepa Wistar, con un peso aproximado de 250-300g al momento del experimento. Todos los animales fueron mantenidos en un bioterio con ciclo de luz-oscuridad invertido (la luz se enciende a las 22:00 h), en grupos de 5 por caja (33 x 44 x 20) y con libre acceso al agua y al alimento.

6.2 Cirugía

Los animales fueron orquidectomizados con el fin de eliminar la principal fuente endógena de T y estrógenos. Las ratas fueron anestesiadas con 2, 2,2-tribromoetanol (200 mg/kg, 1 ml/100 g, i.p.) y posteriormente se hizo una incisión en la zona abdominal para extraer y remover las gónadas. Después de suturar músculo y piel se aplicó un antiséptico local para evitar infecciones. Los animales fueron colocados de nuevo en el bioterio y se permitió un tiempo de recuperación de tres semanas.

6.3 Pruebas conductuales

6.3.1 Prueba de nado forzado

Para la sesión de nado forzado⁽⁵⁹⁾ (ver anexo III) se utilizaron cilindros de vidrio (46 cm de altura x 20 cm de diámetro) con agua (23 ± 2 °C) a una altura de 30 cm. En estas condiciones se coloca a las ratas individualmente dentro del cilindro en una primera sesión de nado forzado (pre-prueba) que tiene una duración de 15 min. La segunda sesión (prueba) se realiza 24h después de la pre-prueba, con una duración

de 5min. Esta última es vídeo filmada y posteriormente revisada por dos observadores independientes, para tener datos confiables.

Las conductas que se registran y analizan son 1) inmovilidad, que se define como los movimientos mínimos que realiza el animal con el fin de mantenerse a flote y poder respirar, 2) el nado, definido como movimientos suaves, con desplazamiento circular, o buceo, y 3) el escalamiento, que consiste en movimientos vigorosos de las patas delanteras sobre las paredes del cilindro. La reducción de la inmovilidad se interpreta como un efecto antidepresivo ⁽⁴¹⁾, en tanto que el aumento de las conductas activas indica el sistema de neurotransmisión implicado en el efecto antidepresivo del fármaco, por ejemplo, el aumento de nado significa que el fármaco utilizado es de tipo serotoninérgico, en tanto que el aumento del escalamiento se interpreta como de tipo noradrenérgico ^(4,5). Se realizó un registro instantáneo de la prueba de 5 min., que consiste en registrar la conducta del animal cada 5 segundos, de tal forma que obtenemos un total de 60 cuentas (frecuencia) divididas entre inmovilidad, nado y escalamiento. Los resultados fueron expresados como el promedio del número de cuentas \pm error estándar de la media (S.E.M.).



Figura17. PNF

6.3.2 Actividad locomotriz

Se realizó una prueba de actividad locomotriz en campo abierto con el fin de descartar que la reducción de la inmovilidad producida por los fármacos se deba a un efecto estimulante sobre la locomoción. La prueba consiste en colocar a cada una de las ratas, con los diferentes tratamientos, en una caja de acrílico transparente (39 cm ancho x 49 cm largo x 19 cm de altura) dividida en 12 cuadros (6.5 x 4.8 cm), y dejarlas caminar libremente durante un periodo de cinco minutos. El registro consiste en contabilizar el número de veces que la rata cambia de cuadro. La variable que medimos es el número de cuadros cruzados en 5 min y los resultados son expresados como media \pm S.E.M.

6.4 Fármacos

Los fármacos antidepresivos, FLX (Sigma-Aldrich Chemicals Co., USA) y DMI (Sigma-Aldrich Chemicals Co., USA), fueron disueltos en solución salina al 0.9 % (solución salina isotónica) y preparadas frescas antes de cada experimento. Estos antidepresivos fueron administrados en un volumen de 2 ml/kg, s.c., en un esquema de administración sub-crónico^(4,5) que consiste en tres inyecciones entre la pre-prueba y la prueba (-23, -5 y -1 h).

Las hormonas utilizadas, propionato de T (PT: Sigma-Aldrich Chemicals Co., USA) y 17 β -estradiol (E₂: Sigma-Aldrich Chemicals Co., USA), fueron disueltas en aceite de maíz más unas gotas de diclorometano. Estos esteroides fueron administrados en un volumen de 0.1ml por rata, s.c., el E₂ 48hr antes del experimento^(10,11) y el PT durante 10 días seguidos antes del experimento⁽³⁴⁾. La última inyección de PT se aplicó 24h antes de la PNF.

5 Series experimentales

6.5.1. Efecto de PT y E₂ en machos ORX.

Inicialmente evaluamos el efecto producido por diferente dosis de PT y E₂. El PT se evaluó en un grupo de animales castrados, los cuales recibieron inyecciones del andrógeno en dosis de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/rata, s.c, por 4,7 ó 10 días antes de la prueba. El efecto del E₂ fue explorado en otro grupo de animales castrados, que recibieron el una inyección del esteroide en dosis de 5, 10, y 20 µg/rata, s.c., 48h antes de la prueba. El rango de dosis fue elegido considerando aquel usado para producir efectos antidepresivos en ratas hembras ovariectomizadas ^(10,11,34).

6.5.2.- Efecto de DMI o FLX en machos ORX

Evaluamos, en machos castrados, diferentes dosis de DMI o FLX que son efectivas para reducir la inmovilidad en machos gonadalmente intactos ⁽³⁴⁾. Las dosis fueron, para DMI 1.25, 2.5 y 5 mg/kg, s.c., aplicadas en un esquema sub-crónico que consistió de tres inyecciones administradas entre la pre-prueba y la prueba (23.5, 5 y h antes de la prueba).

6.5.3.- Efecto de DMI o FLX en machos ORX con tratamiento de restitución hormonal

Se evaluó también la participación de PT en el efecto producido por DMI y FLX, para los cuales a un grupo de animales se les administró dosis inefectivas de PT (0.5, 1.0 y 2.0 mg/rata) y dosis sub-óptimas de los antidepresivos DMI (2.5 y 5.0 mg/kg, s.c., tres inyecciones antes de la prueba) o FLX (10 mg/kg, s.c., tres inyecciones antes de la prueba).

Para evaluar la participación del estradiol en el efecto antidepresivo de DMI y FLX, otro grupo de animales tratados con dosis inefectivas de E₂ (5 y 20 µg/rata, s.c.,

48h antes de la prueba) recibió dosis inefectivas de DMI (2.5 mg/kg, s.c., tres inyecciones antes de la prueba) o FLX (10 mg/kg, s.c., tres inyecciones antes de la prueba) En dosis inefectivas en animales castrados.

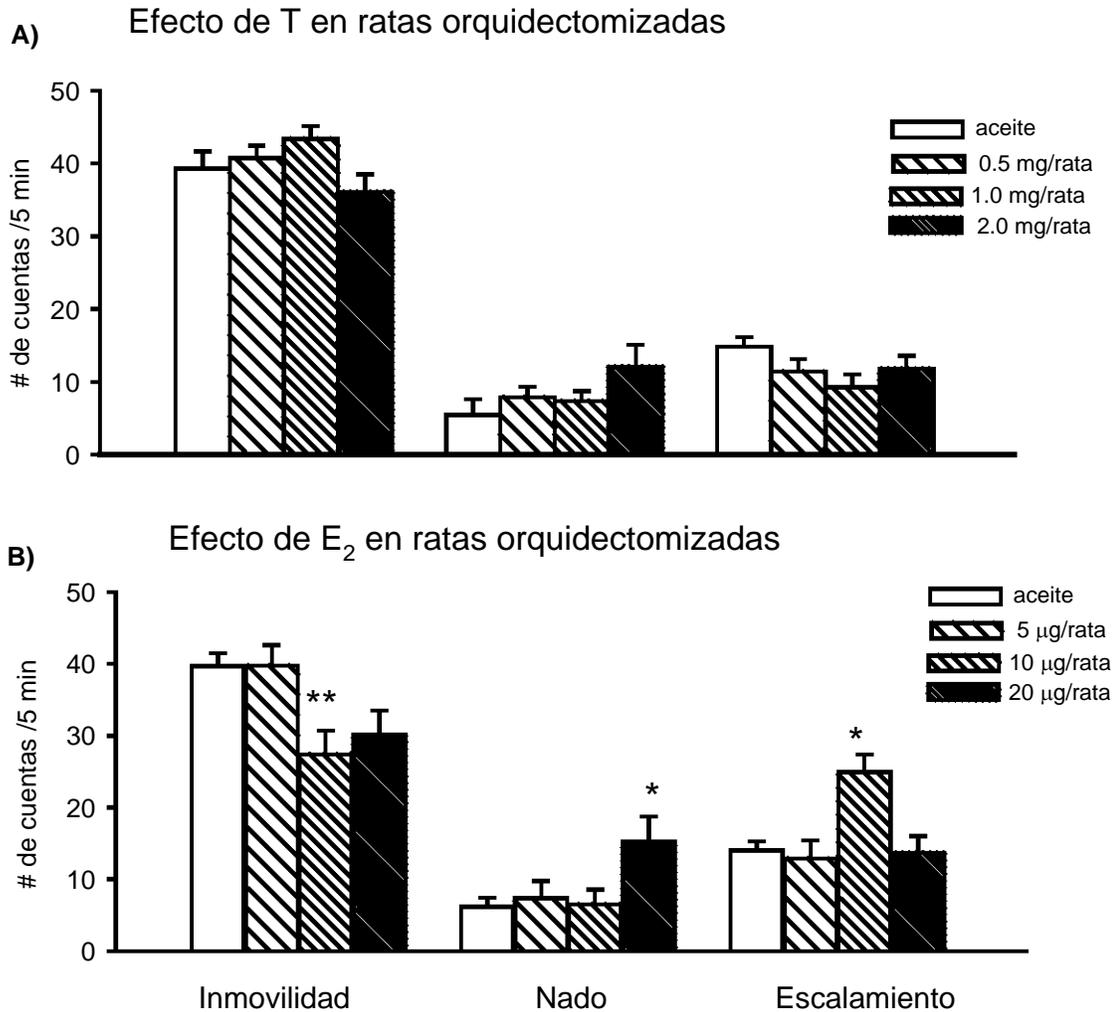
6.6 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el análisis de varianza de una vía para grupos independientes. Cuando el ANDEVA de una vía mostró diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$) se utilizaron las pruebas *post hoc* Dunnet^(*), para comparar los grupos experimentales contra un grupo control, o Tukey^(*), para hacer comparaciones múltiples.

7. Resultados

La administración de largo plazo con PT (gráfica 1, subcuadro A) no produjo cambios estadísticamente significativos en la inmovilidad, nado o escalamiento de las ratas macho orquidectomizadas [inmovilidad $F(3,43) = 1.96$, $p = 0.134$; nado $F(3,43) = 1.80$, $p = 0.162$; escalamiento $F(3,43) = 1.97$, $p = 0.133$]. En contraste, el tratamiento con una sola inyección de E_2 (gráfica 1, subcuadro B) produjo un efecto antidepresivo a la dosis de 10 $\mu\text{g}/\text{rata}$ en machos orquidectomizados, que fue evidenciado por la disminución de la inmovilidad y aumento del escalamiento. Este esteroide careció de efecto antidepresivo cuando se administró a las dosis de 5 ó 20 $\mu\text{g}/\text{rata}$, pero con esta última produjo un incremento estadísticamente significativo del nado [inmovilidad $F(3,99) = 5.08$, $p = 0.005$; nado $F(3,39) = 3.25$, $p = 0.03$; escalamiento $F(3,99) = 6.93$, $p < 0.01$].

En la grafica 2 se muestra el efecto de diferentes dosis de DMI (subcuadro A) y FLX (subcuadro B) en machos castrados. La DMI produjo un efecto antidepresivo caracterizado por reducción de la inmovilidad e incremento en el escalamiento [inmovilidad $F(4,44) = 8.11$, $p < 0.001$; Nado $F(4,44) = 2.67$, $p = 0.04$; escalamiento $F(4,44) = 7.03$, $p < 0.001$]. Este compuesto fue efectivo a la dosis de 5 mg/kg. Para la FLX, no se observaron cambios en la inmovilidad ($F(2,28) = 2.69$, $p < 0.06$) ni en las conductas activas (nado $F(2,28) = 1.44$, $p = 0.25$; escalamiento $F(2,28) = 0.33$, $p = 0.72$) en los machos castrados tratados con este inhibidor de la recaptura de serotonina. Incluso una dosis tan alta como 20 mg/kg fue inefectiva para producir efecto antidepresivo en machos castrados.



Gráfica 1. El E₂ produjo disminución significativa de la inmovilidad y aumento del escalamiento en los machos castrados. Prueba Dunnet: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ versus control vehículo.

En la prueba de actividad motora, el tratamiento con la dosis más alta de E₂ (tabla 1) produjo una tendencia a disminuir la ambulación general de los animales [$F(2,17) = 2.71$, $p = 0.098$]. En contraste, DMI a 5 mg/kg y FLX a 10 mg/kg produjeron (tabla 2) una disminución estadísticamente significativa de la ambulación general en machos castrados [$F(2,19) = 11.79$, $p < 0.001$].

Tabla 1. Efecto del E₂ en la actividad motriz de ratas macho orquidectomizadas.

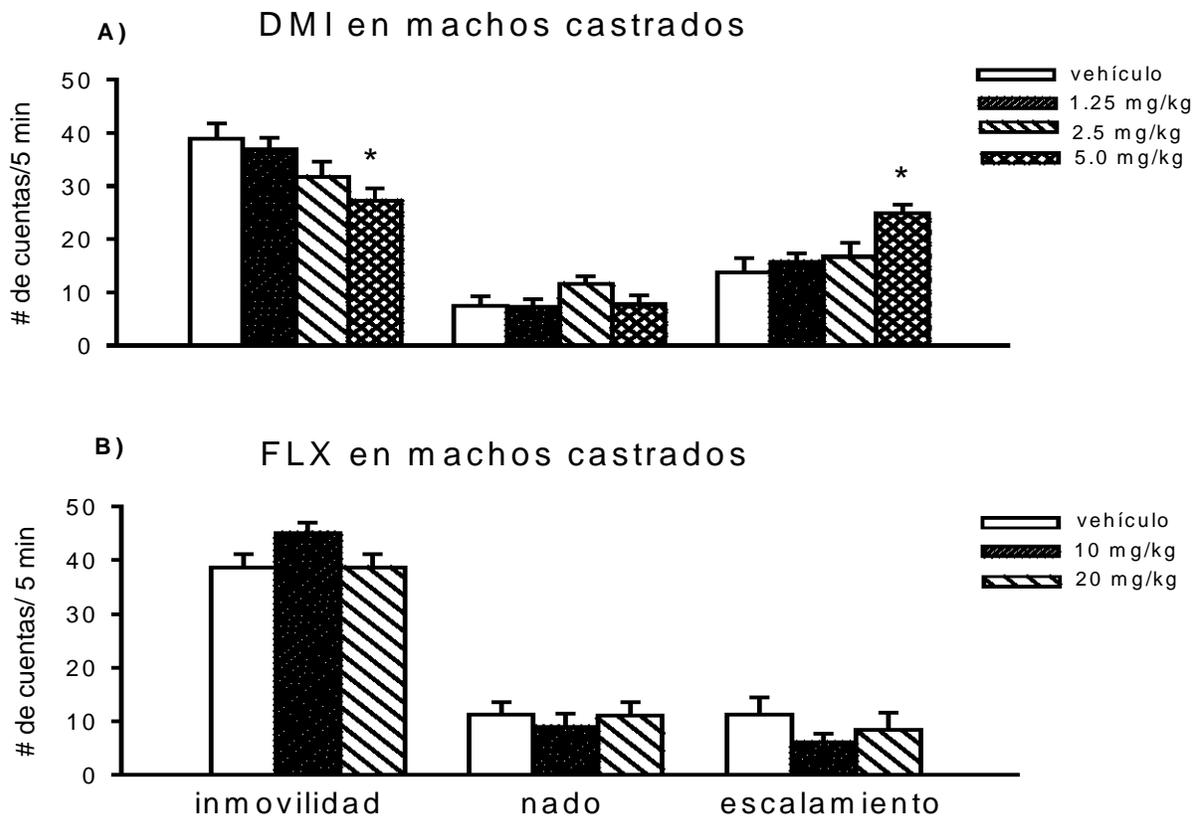
| Tratamiento | Media ± Error |
|--------------------------|---------------|
| Aceite | 55.167±6.916 |
| E ₂ 10µg/rata | 57.667±6.108 |
| E ₂ 20µg/rata | 38.167±6.242 |

Resultado de la ANDEVA: NS

Tabla 2. Efecto de DMI y FLX en la actividad motriz de ratas macho orquidectomizadas.

| Tratamiento | Media ± Error |
|-------------|-----------------|
| Salina | 55.167±6.916 |
| DMI 5mg/kg | 23.857±2.659*** |
| FLX 10mg/kg | 32.714±3.944** |

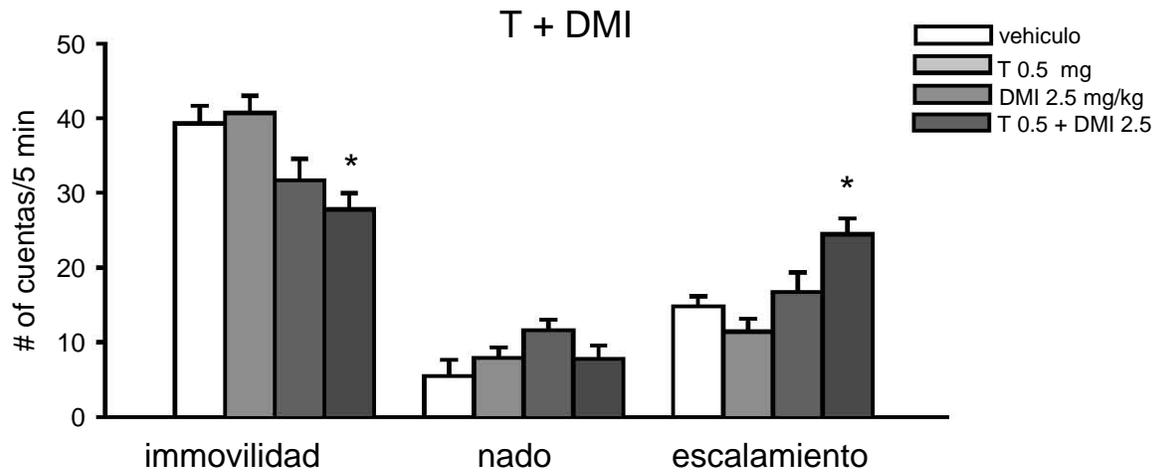
Resultado de la prueba Tukey: **** p< 0.001; ** p< 0.01 *versus* el grupo control vehículo.



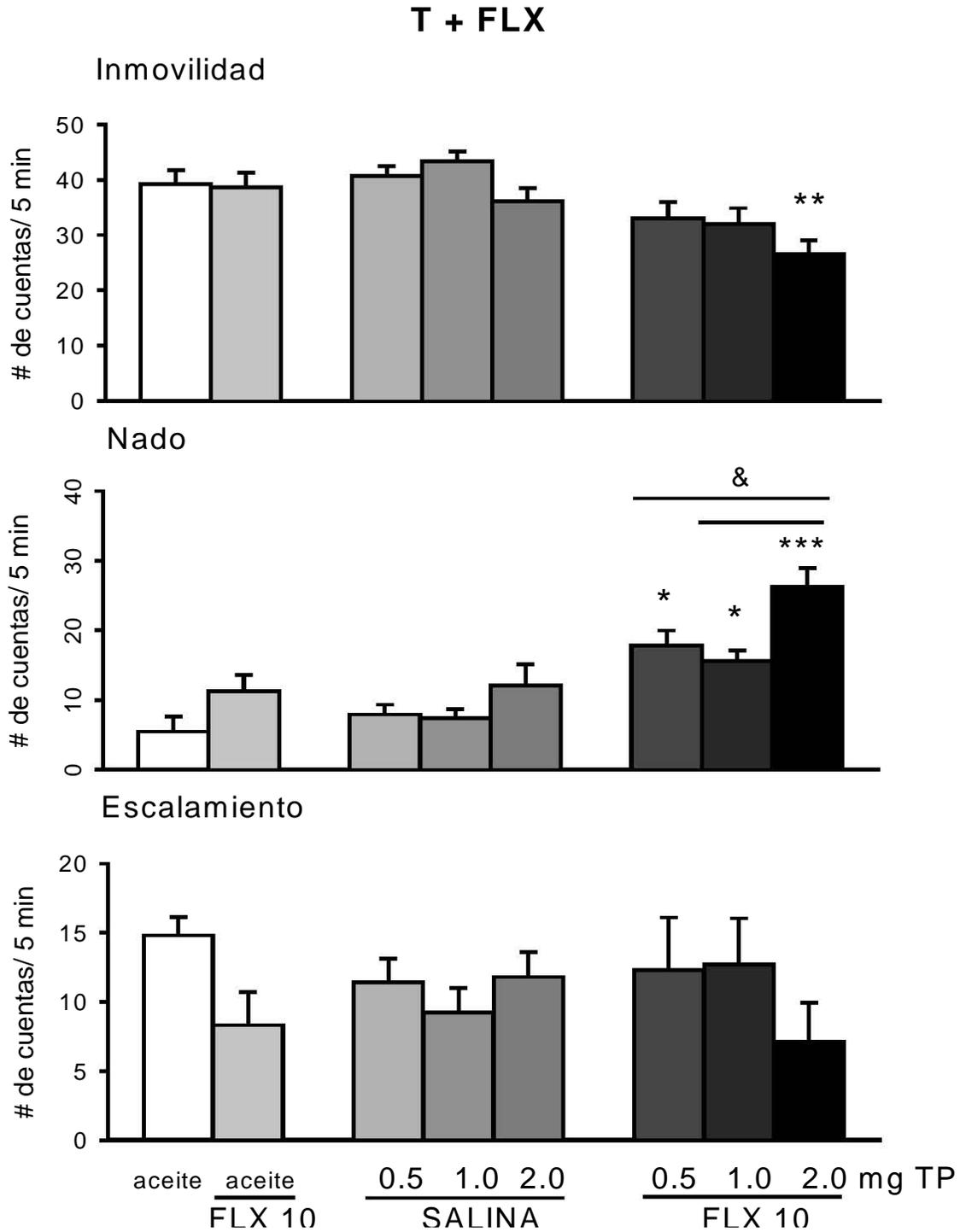
Gráfica 2. La DMI disminuyó la inmovilidad y aumentó el escalamiento en los machos castrados, en tanto que la FLX careció de efecto en estos animales. Prueba Dunnet: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ versus grupo control vehículo.

En la combinación de DMI con PT, ilustrado en la figura 3, encontramos que DMI produjo un efecto antidepresivo cuando los animales fueron pre-tratados con 0.5 mg/rata del andrógeno (las otras dosis en combinación con DMI no se muestran). Este efecto antidepresivo se reflejó en disminución de la inmovilidad y aumento del escalamiento [$F(3,39)=6.02$, $p=0.002$; nado $F(3,39)=2.14$, $p=0.111$; escalamiento $F(3,39)=7.24$, $p < 0.001$]. Para FLX (gráfica 4), este compuesto también recuperó su efecto antidepresivo, con disminución de la inmovilidad y aumento del nado, en ratas pre-tratadas con PT. De forma interesante, el efecto de este inhibidor de la recaptura de serotonina, sólo se observó con una dosis de 2 mg/rata de PT [inmovilidad

$F(7,82)= 7.38, p < 0.001$; nado $F(7,82)=10.12, p < 0.001$; escalamiento $F(7,82)= 1.64, p=0.137$].



Gráfica 3. Efecto de DMI en ratas tratadas previamente con PT (10 días). El fármaco antidepresivo recuperó su efecto en machos castrados sólo después de la restitución hormonal. Prueba Tukey * $p < 0.05$.



Gráfica 4. Efecto de FLX en ratas tratadas previamente con PT (10 días). Este antidepresivo recuperó su efecto en machos castrados sólo después del tratamiento crónico con el andrógeno. Prueba Tukey: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (versus grupo aceite) Brackets & $p < 0.05$

En la gráfica 5 se muestra el efecto de DMI en animales tratados con una inyección de E₂ (5 µg/rata). Como podemos observar ni DMI ni el estrógeno produjeron un efecto antidepresivo cuando se administraron por separado en dosis sub-óptimas. En contraste, en ratas tratadas previamente con una dosis sub-efectiva de E₂ la DMI recuperó su efecto antidepresivo expresado como disminución de la inmovilidad y aumento del escalamiento [inmovilidad F (3,33)= 4.66, $p= 0.009$; nado F(3,33)= 1.90, $p= 0.15$; escalamiento F(3,33)= 2.33, $p= 0.05$].

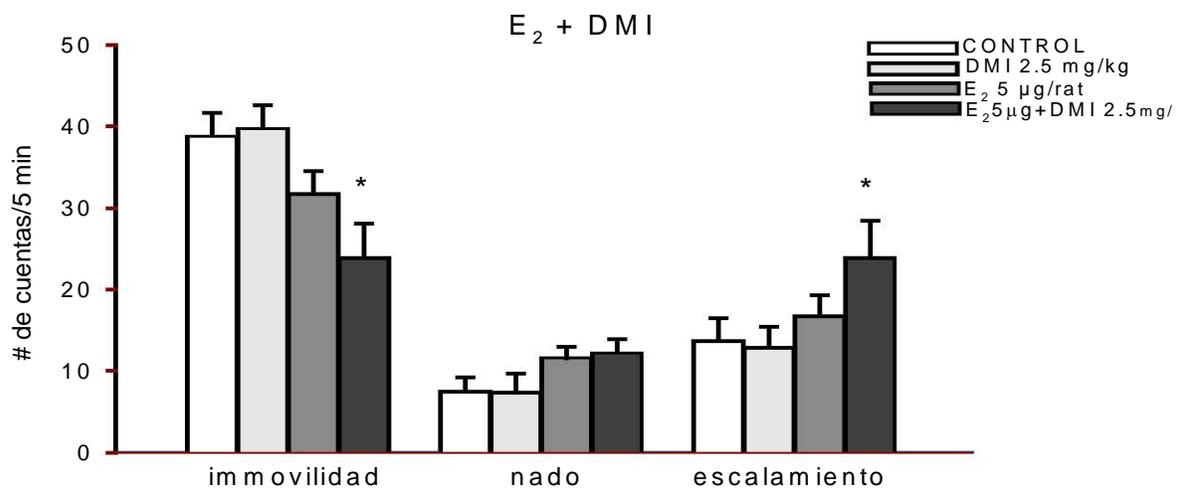
En la gráfica 6 se muestra el efecto de FLX en ratas macho castradas y tratadas con E₂. FLX no recuperó su efecto antidepresivo cuando fue administrada en animales tratados con 5 µg/rata de E₂; sin embargo, este inhibidor de la recaptura de serotonina produjo efecto antidepresivo cuando los animales recibieron una dosis de 20µg/rata de E₂. Este efecto se observó con la disminución de la inmovilidad y el aumento del nado [inmovilidad F (5,52)= 10.71, $p< 0.001$; nado F(5,52)= 12.46, $p< 0.001$; escalamiento F(5.52)= 3.35, $p=0.01$].

En la prueba de actividad motora, el tratamiento con la combinación de los antidepresivos y las hormonas PT y E₂ (tabla 3) produjeron una tendencia a disminuir estadísticamente significativa de la ambulación general en machos castrados [F(4,30)=7.542, $p< 0.001$, $p< 0.01$].

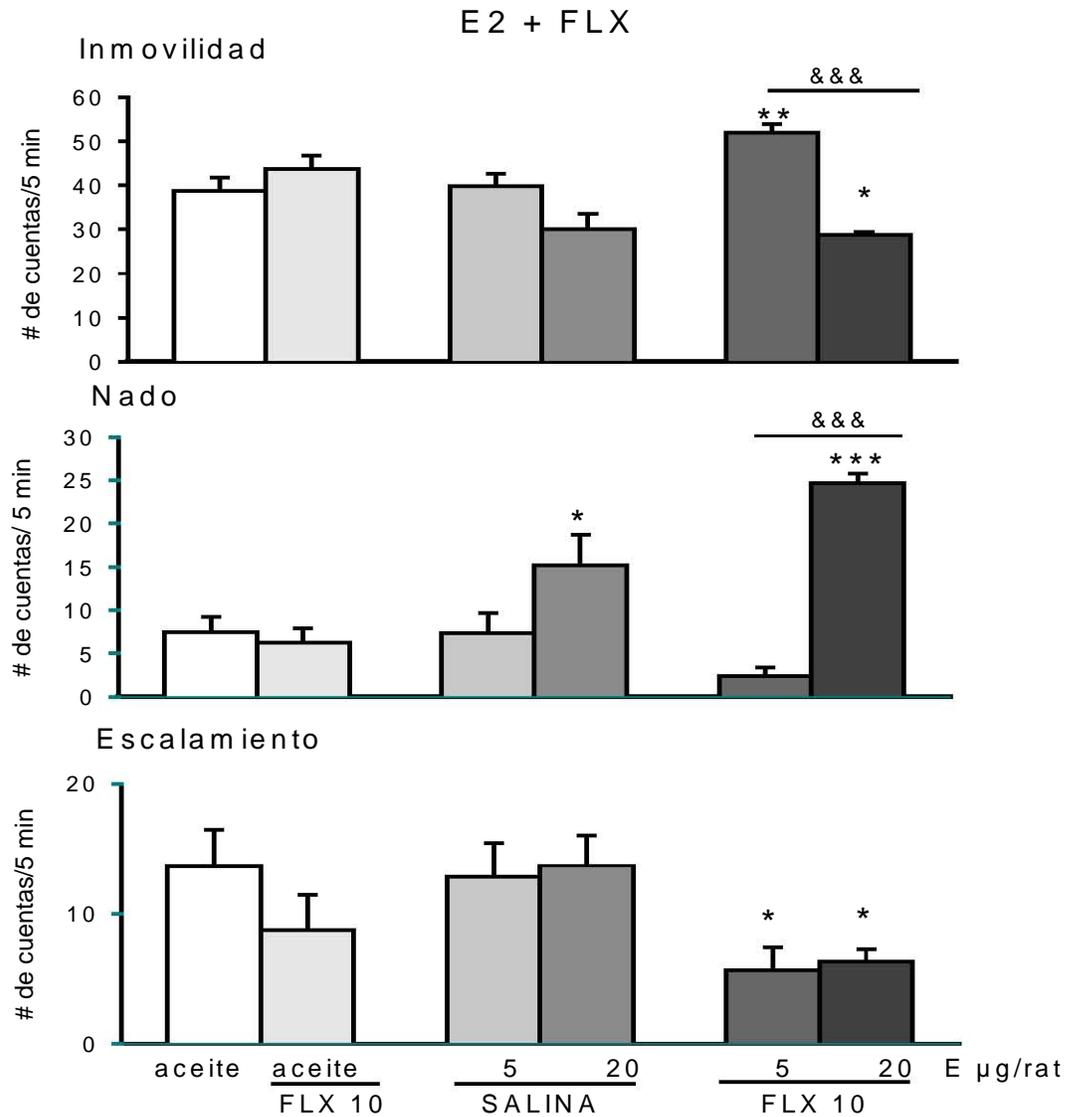
Tabla 3. Efecto de la combinación de PT y E₂ con DMI y FLX en la actividad motriz de ratas macho ORX.

| Tratamiento | Media ± Error |
|---------------------------------------|------------------|
| Aceite | 55.167±6.916 |
| PT0.5mg/rata + DMI 2.5mg/kg | 29.857±3.869 ** |
| PT 2mg/rata + FLX 10mg/kg | 29.333±2.741 *** |
| E ₂ 5µg/rata+ DMI 2.5mg/kg | 26.167±2.083 ** |
| E ₂ 20µg/rata+FLX 10mg/kg | 28.000±3.240 ** |

Resultado de la prueba Tukey: **** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$ versus el grupo control vehículo.



Gráfica 5. La combinación de dosis sub-óptimas de DMI y E₂ produjo disminución de la inmovilidad y aumento del escalamiento. Prueba Dunnet * $p < 0.05$ versus grupo control vehículo.



Gráfica 6. La combinación de dosis sub-óptimas de FLX y E₂ produjo un efecto antidepresivo que se observó con la disminución de la inmovilidad y el aumento del nado. Prueba Tukey * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ versus grupo control vehículo; brackets &&& $p < 0.001$.

8. Discusión

Los resultados del presente trabajo se resumen de la siguiente manera:

- a) En animales castrados la restitución con T no produjo efecto antidepresivo en la prueba de nado forzado, mientras que la administración de su metabolito estrogénico principal, el E₂, si indujo acciones antidepresivas.
- b) La castración en machos modificó la sensibilidad para responder a fármacos antidepresivos, ya que redujo el umbral de respuesta para DMI y canceló el efecto antidepresivo de FLX.
- c) La restitución hormonal con T recuperó el efecto de los fármacos antidepresivos, DMI o FLX; así mismo, el metabolito estrógeno de T; el E₂ también recuperó el efecto de ambos antidepresivos.

La desesperanza es una de las emociones que caracterizan a la depresión en el ser humano, y en algunos modelos animales se ha utilizado como indicativo del “estado emocional del animal”. En la prueba de nado forzado, la conducta de inmovilidad que asume el animal después de ser sometido a estrés, es análoga a la desesperanza presentada por el humano deprimido ⁽⁴¹⁾, y al igual que en éste, es susceptible de ser disminuida con el tratamiento con antidepresivos ^(4,5).

En individuos del sexo masculino, la T es uno de los principales andrógenos que se encarga de regular las funciones de reproducción, libido, aumento en la masa muscular y fuerza ^(17,30). Se ha propuesto, además, que este esteroide podría estar modulando el estado de ánimo en el hombre ⁽³³⁾; de hecho, en estudios clínicos han observado que hombres deprimidos presentan baja concentración de T plasmática ⁽²⁶⁾.

De forma interesante, la ausencia de esteroides gonadales, ya sea por castración química o por alguna enfermedad como SIDA, leucemia o cáncer, altera el estado de ánimo de los individuos y favorece la aparición de episodios o trastorno depresivo ^(16,38). Para simular este estado de hipogonadismo en la rata, llevamos a cabo la castración, con el fin de evaluar los posibles cambios en la desesperanza asociados a tal estado en los machos. En contraste a lo reportado para algunos humanos hipogonadales, nuestras ratas no mostraron cambios conductuales en la prueba de nado, confirmando datos previos del laboratorio ⁽³⁴⁾, lo que nos indica que el modelo es confiables y los resultados reproducibles. La ausencia de cambios conductuales por efecto de la castración puede deberse a insensibilidad del modelo animal utilizado, o a que el tiempo post-orquidectomía de 3 semanas es corto para ver repercusiones conductuales asociadas a un déficit hormonal, por lo que sería necesario hacer un curso temporal del efecto de la castración en la prueba de nado para confirmar esta propuesta.

En reportes clínicos se indica que la administración de T u otros andrógenos reduce la depresión en algunos pacientes, y con un nivel de efectividad semejante al de los antidepresivos clínicos ^(40,47). En nuestro estudio no encontramos efecto antidepresivo después de la administración crónica de T en los machos orquidectomizados. Aun cuando desconocemos porque la T careció de efecto en el modelo de depresión, sabemos que este esteroide produce acciones ansiolíticas en machos castrados ⁽¹³⁾, y mejora la habilidad de las ratas en pruebas de aprendizaje y memoria ⁽³¹⁾, lo que sugiere que este andrógeno es necesario para el mantenimiento de funciones reguladas por el SNC.

Se ha observado que en hombres hipogonadales disminuye la respuesta a fármacos psicoactivos, como los antidepresivos ⁽⁴⁷⁾. Estas evidencias también se replican en estudios básicos, ya que se ha demostrado que la orquidectomía en ratas cancela el efecto de los fármacos antidepresivos DMI y FLX en la PNF ⁽³⁴⁾. En el presente estudio, encontramos resultados similares para FLX, ya que su efecto fue abolido por la castración, no así para DMI, el cual produjo un efecto antidepresivo cuando se administró a la dosis de 5mg/kg a ratas orquidectomizadas. La reducción en el umbral de respuesta a antidepresivos puede explicarse tomando como base la regulación que ejerce la T sobre los sistemas de neurotransmisión 5-HT y NA, en donde actúan estos dos fármacos ^(14,24,25). Para NA, se sabe que la castración reduce la neurotransmisión y el tratamiento con T la restablece; estos cambios se han tanto a nivel del transportador de NA como en el contenido cerebral del neurotransmisor ^(24,50). De forma interesante para 5-HT, se ha observado que la administración de T y de estrógenos, pero no de DHT, revierte los cambios de la neurotransmisión provocados por la castración ^(1,44,54).

Si bien la FLX se ha propuesto como un regulador de la concentración de neuroesteroides ⁽⁵⁶⁾, que a su vez actúan sobre el receptor GABA_A (entre otros), desconocemos si con nuestro tratamiento (3 inyecciones en 24h, 10 mg/kg) puede generarse aumento de neuroesteroides suficiente para producir un efecto antidepresivo en los animales castrados. Es punto queda por ser explorado.

Con estos hallazgos, como primera aproximación, evaluamos el efecto producido por la restitución con PT a ratas orquidectomizadas, encontrando que el tratamiento con PT permite el efecto antidepresivo de FLX, y facilita el de DMI. Para los dos fármacos, se produjo disminución de la inmovilidad y el aumento del nado o el escalamiento, respectivamente. Este efecto fue acompañado por reducción de la

actividad ambulatoria, un resultado que no se contrapone a las acciones antidepresivas de las combinaciones de PT con ambos fármacos.

Se encontró que el efecto de DMI, se recupera con una dosis de PT considerada fisiológica, mientras que para FLX la dosis de PT debe ser de 2mg/rata. El mecanismo de acción de este efecto es desconocido, aunque probablemente, es posible considerar una menor sensibilidad del sistema serotoninérgico en comparación con el sistema noradrenérgico ⁽²⁵⁾.

Con estos antecedentes, aun desconocíamos si la participación de T en el efecto de fármacos antidepresivos era debida a la acción del andrógeno o por alguno de sus metabolitos. Debido a esto, en nuestro estudio quisimos determinar el efecto de uno de los metabolitos de T, el E₂ el cual surge como consecuencia del metabolismo del andrógeno. En el hombre, el 60% de E₂ se forma en tejidos extragonadales, incluyendo el cerebro, por la enzima aromatasa ⁽²²⁾. La aromatización de T a E₂ es requerida para la manifestación de conductas sexuales y neuroendocrinas. En el cerebro de la rata la actividad de la aromatasa es reportada en el área medial preóptica, en la región del hipotálamo anterior, en el núcleo de la cama de la *estria terminalis* y en la amígdala ⁽²²⁾, estructuras que forman parte del sistema límbico y que participan en la regulación de las emociones ⁽²²⁾.

El panorama para los efectos de los estrógenos es muy amplio y a la fecha se han realizado una gran cantidad de estudios los cuales evidencian el papel de los estrógenos como antidepresivos tanto en la mujer ⁽⁹⁾ como en la rata hembra ^(10,11) Por ejemplo, la restitución hormonal con estrógenos en mujeres posmenopáusicas, o en estados depresivos post-parto, produce un decremento de los síntomas depresivos de estas pacientes ^(20,21,23). Estudios básicos también han demostrado que la

administración de E₂ a ratas hembra ovariectomizadas produce un efecto semejante al de los fármacos antidepresivos ^(10,11). En nuestro trabajo encontramos similitudes cuando administramos E₂ (10 µg/rata) a machos orquidectomizados. La dosis efectiva de E₂ produjo disminución de la inmovilidad y aumento en el escalamiento, lo que nos sugiere que este efecto podría estar mediado por el sistema noradrenérgico. De forma interesante, una dosis más alta de E₂ (20µg/rata), aunque no produce disminución significativa de la inmovilidad – y en consecuencia efecto antidepresivo-, aumenta la conducta de nado, lo cual nos sugiere la posible participación del sistema serotoninérgico. Con estos resultados proponemos que en las acciones antidepresivas del E₂ participan tanto el sistema noradrenérgico, como el serotoninérgico.

Estudios en hembras también han demostrado que el E₂ facilita el efecto de DMI y FLX en la PNF ⁽¹¹⁾. La hipótesis de la participación del E₂ en las acciones de los antidepresivos en machos fue apoyada por otros datos previos, en los que encontramos que el efecto de DMI no fue bloqueado por un antagonista de los receptores a andrógenos (flutamida). Nuestros resultados indican que el efecto de DMI y FLX se recuperó en animales tratados con E₂; esta respuesta antidepresiva no se debió a un efecto estimulante de los tratamientos, ya que no se encontró aumento de la actividad locomotriz con los compuestos por separado, ni con las combinaciones de tratamiento. Con estas evidencias podemos sugerir que este metabolito de la T también participa en el efecto de los fármacos antidepresivos en individuos del sexo masculino.

9. Conclusiones

- Aunque la castración *per se* no modifica la conducta de desesperanza en machos, sí provoca cambios en los sistemas de neurotransmisión de 5-HT, y en menor grado de NA. Esta afirmación se sustenta en la respuesta a fármacos encontrada en las ratas macho castradas.
- La T en los machos participa en el efecto antidepresivo de DMI y FLX.
- El compuesto estrógeno E_2 produce un efecto semejante al de los antidepresivos en la prueba de nado forzado y participa en el efecto de los fármacos DMI y FLX.
- La dosis efectiva de E_2 para producir efecto antidepresivo en machos es equivalente al que produce este efecto en ratas hembras OVX.
- Estos resultados indican que el E_2 participa en la regulación que ejerce la T en el efecto de los fármacos antidepresivos.

Anexo I

Clasificación de los desórdenes depresivos de acuerdo al DSM-IV

Trastorno depresivo mayor: se caracteriza por uno o más episodios depresivos mayores por ejemplo al menos dos semanas de estado de ánimo depresivo o pérdida del interés acompañados por al menos otros cuatro síntomas de depresión.

Trastorno distímico: se caracteriza por al menos dos años en los que ha habido más días con estado de ánimo depresivo que sin él, acompañados de otros síntomas depresivos que no cumplen con los criterios para un estado depresivo mayor.

Trastorno depresivo no especificado: se incluyen para codificar los trastornos con características depresivas que no cumplen los criterios para un trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, trastorno adaptativo con estado de ánimo deprimido o trastorno adaptativo con estado de ánimo mixto ansioso y depresivo.

Trastorno bipolar I: se caracteriza por uno o más episodios maníacos o mixtos, habitualmente acompañados por episodios depresivos mayores.

Trastorno bipolar II: se caracteriza por uno o más episodios depresivos mayores acompañados por al menos un episodio hipomaniaco.

Trastorno ciclotímico: se caracteriza por al menos dos años de numerosos periodos de síntomas hipomaniacos que no cumplen los criterios para un episodio maniaco y

numerosos síntomas depresivos que no cumplen los criterios para un episodio depresivo mayor.

Trastorno bipolar no especificado: se incluyen para codificar los trastornos con características bipolares que no cumplen criterios para ninguno de los trastornos bipolares específicos definidos.

Trastorno del estado de ánimo debido a enfermedad médica: se caracteriza por una acusada y prolongada alteración del estado de ánimo que se considera un efecto fisiológico directo de una enfermedad médica.

Trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias: se caracteriza por una acusada y prolongada alteración del estado de ánimo que se considera un efecto fisiológico directo de una droga, un medicamento, otro tratamiento somático para la depresión o la exposición a un tóxico.

Trastorno del estado de ánimo no especificado: se incluye para codificar los trastornos con síntomas afectivos que no cumplen los criterios para ningún trastorno del estado de ánimo y en los que es difícil escoger entre un trastorno depresivo no especificado y un trastorno bipolar no especificado.

1. Manual diagnóstico y estadístico de enfermedades mentales; DSM IV-R 1998

Anexo II

Criterios de validez de los trastornos psiquiátricos para los modelos animales.

Los modelos animales son preparaciones realizadas para que los animales muestren uno ó más signos de depresión: desesperanza, anhedonia, etc. La mayoría conllevan lesiones de algunas estructuras cerebrales o la aplicación de estresores agudos o crónicos ⁽²⁾.

Un modelo es definido como una preparación experimental, en este caso animal, que es desarrollada con el fin de estudiar una condición dada en diferentes especies ⁽⁴⁾.

La validación de un modelo animal es muy importante ya que se debe tomar en cuenta el principal objetivo para el cual fue desarrollado para ello, ⁽¹⁾ propone tres criterios de validez que permiten evaluar a los modelos animales los cuales son los siguientes:

- a) el criterio de validez de apariencia, que se refiere a la similitud fenomenológica entre el modelo y el desorden que se quiere estudiar
- b) el criterio de validez de constructo hipotético, que se refiere a las bases teóricas subyacentes al desorden psiquiátrico, este criterio establece que las hipótesis que explican las causas del desorden psiquiátrico también deben servir como fundamento del modelo
- c) el criterio de validez predictiva, implica que todas las manipulaciones que modifican el estado patológico en los humanos también deben hacerlo en el modelo animal

En la práctica, la validez predictiva del modelo se determina por la respuesta a los tratamientos farmacológicos⁽³⁾.

-
1. Nemeroff C. The neurobiology of depression. *Scientific American* 1998: 42-49.
 2. Roselli CE, Abdelgadir SE, Resko JA: Regulation of aromatase gene expression in the adult rat brain. *Brain Res Bull* 1997;44:351-357
 3. Tancredi A, Reginster JY, Luyckx F, Legros JJ. No major month to month variation in free testosterone levels in aging males. Minor impact on the biological diagnosis of 'andropause'. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30: 638-646.
 4. Wagner, GJ, Rabkin, JG, Rabkin, R. A comparative analysis of standard and alternative antidepressants in the treatment of Human Immunodeficiency Virus patients. *Com. Psychiat.* 1996; 37, 402-408.

Anexo III

Modelo de nado forzado

La prueba de nado forzado (PNF) descrita por Porsolt y cols (1974), fue propuesta como un modelo de depresión en roedores y actualmente es utilizada como un modelo para evaluar el mecanismo de acción y propiedades de fármacos antidepresivos. El modelo consiste forzar al animal a nadar en un espacio restringido e inescapable, de tal manera que éste se enfrente a una situación estresante que lo conduzca a un estado de desesperanza, análogo al que muestra un individuo deprimido. Esta prueba consiste de dos sesiones; la primera llamada pre-prueba tiene una duración de 15 minutos y en ella se busca inducir la desesperanza, la cual se manifiesta por la postura de inmovilidad que adquiere el animal al cabo de un tiempo, y que es manifestada por los mínimos movimientos que el animal realiza para mantener la cabeza fuera del agua. Además de la conducta de inmovilidad, los roedores desarrollan una serie de conductas activas como el nado (movimientos suaves que le permiten desplazarse alrededor del estanque) y el escalamiento (movimientos rigurosos que realiza en animal alrededor del las paredes del estanque), y que son intentos que el animal realiza para salir de la situación estresante estas dos conductas son presentadas de acuerdo al tipo de fármaco utilizado (**ver tabla A**). En la segunda etapa, llamada prueba, los fármacos antidepresivos son evaluados. Esta sesión que es grabada se realiza 24hr después de la preprueba y tiene una duración de 5 minutos

La utilidad del modelo de nado forzado reside en que además de revelar el efecto antidepresivo de nuevos compuestos, permite distinguir el mecanismo de acción primario seguido por los tratamientos. Esto se deduce de los cambios producidos por los antidepresivos sobre las conductas activas (ver tabla A).

TablaA .Efecto de los fármacos antidepresivos en la PNF

| | Inmovilidad | Nado | Escalamiento |
|--------------------------------------|-------------|------|--------------|
| Inhibidor de la Recaptura de 5-HT | ↓ | ↑ | ⊘ |
| Inhibidor de la Recaptura de NE | ↓ | ⊘ | ↑ |
| Inhibidor de la Recaptura de 5-HT/NE | ↓ | ↑ | ↑ |

1. Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacol.* 1995; 121, 66-72.
2. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977; 266: 730-732.
3. Willner P, Muscat R. Animal models for investigating the symptoms of depression and the mechanism of action of antidepressant drugs in: *Animal models of psychopharmacology.* Olivier B, Mos J, Slagen JL (Eds). Birkhauser verlag. Switzerland 1994: pp 161-182.

Anexo IV

Sistema GABA-érgico

El ácido gama-amino-butírico se localiza en grandes cantidades en el sistema nervioso central y en menor cantidad en los tejidos periféricos. Es considerado como el principal neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso central. Las regiones que más contienen GABA son la corpora trigémina y las regiones diencefálicas, mientras que las de menor concentración se encuentran en los hemisferios cerebrales, los núcleos pontinos y la médula espinal u oblonga ⁽¹⁾.

El GABA se forma a partir de la descarboxilación del ácido L-glútamico en una reacción catalizada por la enzima ácido glutámico descarboxilasa (localizada únicamente en el cerebro y la retina), a su vez GABA puede ser transaminado con α -oxoglutarato por la acción de la enzima GABA- α -oxoglutarato transminasa (GABA-T) formando, de esta manera, el semialdehído succínico que servirá de sustrato en el ciclo de Krebs para formar nuevamente ácido glutámico ⁽¹⁾.

Se conocen hasta el momento tres tipos de receptores gabaérgicos, el GABA_A, el GABA_B y GABAC. El primero es un receptor posináptico y presenta las siguientes características: A) es ionotrópico y el canal que a el esta acoplado es de Cl⁻; b) tiene varios sitios de reconocimiento: a GABA, a benzodiazepinas, a barbitúricos y a neuroesteroides ^(4,5). Tanto los fármacos como los esteroides funcionan como moduladores positivos del receptor GABA incrementando su afinidad. c) es antagonizado por dos tipos de fármacos, la bicuculina, que se une específicamente al sitio para GABA, y la picrotoxina que se une al canal e impide el paso del ión Cl. Entre

los agonistas con mayor afinidad a este receptor se encuentra el muscimol, la isoguvacina y el THIP (4,5,6,7-tetrahidroisoxazonol-5,4-piridil-3-ol) ⁽⁴⁾. El receptor GABA_B, es probablemente presináptico, se localiza en la membrana de las terminales axónicas y está asociado a segundos mensajeros, por lo que se le denomina receptor metabotrópico. Uno de los mecanismos de acción a través del cual el receptor GABA_B puede ser activado implica la participación de la proteína G, la cual una vez activada por GABA o por el baclofen (agonista GABA_B), activa la fosfolipasa A₂, que a su vez promueve la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos. Éste actuando como un segundo mensajero, activa una proteína cinasa C, cuya acción final es la apertura de canales a K⁺, con la consecuente entrada de este catión y por lo tanto, su hiperpolarización. Otro posible mecanismo involucra el cierre de canales a calcio; nuevamente promovido por una proteína G, que en este caso actúa directamente sobre el canal, sin la intermediación de segundos mensajeros citoplasmáticos.

Ha resultado de particular interés en fechas recientes, la relación entre el receptor GABA_A y los neuroesteroides, en la regulación del estado de ánimo, de la ansiedad y de patologías como la epilepsia ⁽³⁾. Los efectos producidos por los neuroesteroides son inmediatos: en los tejidos excitables, la progesterona y otras progestinas se unen a un sitio de reconocimiento a neuroesteroides ubicado en los receptores GABA_A ⁽²⁾. De esta forma la hormona precursora de la progesterona (pregnenolona) actúa como un modulador negativo del receptor GABA_A, en tanto que el metabolito reducido de la progesterona (alopregnanolona) modula positivamente a este receptor ⁽³⁾.

Estudios efectuados en modelos animales (desesperanza aprendida, bulbectomia) señalan que el decremento funcional en los receptores GABA_B parece ser una característica del estado depresivo. Aunque no se sabe que receptores GABA-érgicos están alterados en la depresión es claro que existe una alteración en dicho sistema ⁽³⁾.

-
1. Cooper J, Bloom F y R Roth. Amino acids transmitters in: The biochemical basic of neuropharmacology. Oxford University Press, 1991, 133-166.
 2. Gee K, Bolger M, Briton R, Coirini H, B McEwen. Steroid modulation of chloride ionophore in rat brain: structure-activity requirements, regional dependence and mechanism of action. J Pharmacolo Exp Ther, 1998:803-812.
 3. Lambert J, Belelli, Hill-Venning C, Peter J. Neurosteroid and GABA_A Receptor function. Tips, 1995;16:295-303.
 4. Pasantes H, Sánchez J, Tapia R. Neurobiología celular. Fondo de cultura económica. Secretaria de educación y cultura. México D.F. 1991
 5. Repprecht R. The neuropsychopharmacological potencial of neuroactive steroid. J Psychiat Res, 1997;31(3):297-314.

10. Referencias

1. Bitar, MS, Ota, M, Linnoila, M, Shapiro, BH. Modification of gonadectomy-induced increases in brain monoamine metabolism by steroid hormones in male and female rats. *Psychoneuroendocrinol* 1991; 16: 547-557.
2. Blier P. Possible neurobiological mechanisms underlying faster onset of antidepressant action. *J Clin Psychiat* 2001; 62:7-11
3. Caraveo-Anduanga J, Colmenares E, Saldivar G. Estudio clínico-epidemiológico de los trastornos depresivos. *Salud Mental* 1999; 22:2:7-17
4. Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacol.* 1995; 121, 66-72.
5. Detke MJ, Johnson J, Lucki I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol* 1997; 5: 107-112.
6. Duman R, Heninger G, Nestler E. A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiat* 1997; 54:597-606.
7. Duman R. The neurochemistry of mood disorder: preclinical studies. In: Charney D, Nestler E, Bunney B (eds). *Neurobiology of mental illness*, Oxford University Press 1999; pp 333-347.
8. Duman R. Synaptic plasticity and mood disorder. *Mol Psychiatr* 7 Suppl 1, 2002; S29-S34.
9. Epperson CN, Wisner KT, Yamamoto B. Gonadal steroids in the treatments of mood disorders. *Psychosom Med.* 1999;61: 676-697
10. Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Ruvalcaba C, Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in the forced swimming test. *Neuropharmacol.* 2003;28;830-838.
11. Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Ruvalcaba C. Interaction between estrogen compounds and the antidepressants in the forced swimming test *Psychopharmacol* 2004;173; 139-145.

12. Felman R, Meyer J, Quenzer L. Principles of Neuropsychopharmacology. Ed.Sinauer; 1996; pp 909.
13. Fernández-Guasti,A, Martínez-Mota L. Orchidectomy sensitizes male rats to the action of diazepam on burying behavior latency: role of testosterone. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75: 473-479.
14. Fink G,Summer B, Rosie R, Wilson H, McQueen J. Androgen action on central serotonin neurotransmission: relevance for mood, mental state and memory. *Behav Brain Res* 1999; 105:53-68.
15. Greenspan F. *Endocrinología básica y clínica, El manual moderno 5ª ed.* México 2003.
16. Greenspoon S, Corcoran C, Stanley T, Baaj A, Basgoz N, Klibanski A. Effects of hypogonadism and testosterone administration on depression Indices in HIV-Infected Men. *The J Clin Endocrinol Metabolism* 2000; 85: 60-65.
17. Goodman-Gilman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica;* McGraw-Hill interamericana1996.
18. Guidotti A, Costa E. Can the antidyphoric and anxiolytic profiles of selective serotonin reuptake inhibitors be related to their ability to increase brain 3a, 5a-tetrahydroprogesterone (allopregnanolone) availability? *Biol. Psychiatry* 1998.
19. Guyton A. *Tratado de fisiología médica,* McGraw-Hill 1996, 945-971.
20. Halbreich U, Kanh L. Role of estrogen in the aetiology and treatment of mood disorders. *CNS Drugs* 2001; 15: 797-817.
21. Hendrick V, Altshules L, Suri R: Hormonal changes in the post-partum and implications for post-partum depression. *Psychosomatics* 1998;39: 93-102,
22. Jakab R.L, Horvath T.L, Leranath C, Harada N, Naftolin F. Aromatase immunoreactivity in the Brain: Gonadectomy-sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive "limbic ring" of the lateral septum-bed nucleus-amigdala complex. *Steroid Biochem Molec Boil* 1993: 44; 481-498.
23. Jesvold M. Non-pregnant reproductive-age women. Part II: exogenous sex steroid hormones and psychopharmacology. In: *psychopharmacology and woman; sex, gender and hormones.* Jensvold M, Halbreich U, Halmilton J (eds). American Psychiat Press (1996b); pp170-190.

24. Kendall D, Stancel G, Enna S. Imipramine: effect of ovarian esterois on modifications in serotonin receptor binding. *Science* 1981; 211: 1183-1185,.
25. Kendall D, Stancel G, Enna S. The influence of sex hormones on antidepressant-induced alterations in neurotransmitter receptor binding. *J Neurosci* 1982; 2: 354-360.
26. Levitt AJ, Joffe RT. Total and free testosterone in depressed men. *Acta Psychiatr Scand.* 1988;77(3):346-8
27. Li Q, Muma A, Van de Kar L. Chronic fluoxetine induces a gradual desensitization of 5-HT_{1A} receptors: reduction in hypothalamic and midbrain G_i and G_o proteins and in neuroendocrine responses to 5-HT_{1A} agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 279:1035-1042
28. Li Q, Muma A, Van de Kar L. A desensitization of hypotalamic 5-HT_{1A} receptors by repeat injections of paroxetine: reduction in the levels of G_i and G_o proteins and neuroendocrine responses, but not in density of 5-HT_{1A} receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1997a;282:1581-1590
29. Li Q, Muma A, Van de Kar L. Fluoxetine gradually increases [¹²⁵I] DOI-labelled 5-HT_{2A/2C} receptors in the Hypothalamus without changing the levels of G_q-and G₁₁-proteins. *Brain Res* 1997b; 775:225-228
30. Litter M, Compendio de farmacología, 4ª ed, El ateneo; Argentina 1992.
31. Luine V, Jacome L, Maclusky N. Rapid enhancement of visual and place memory by estrogen in rats. *Endocrinol* 2003; 144:2836-2844.
32. Manual diagnostico y estadístico de enfermedades mentales; DSM IV-R 1998.
33. Margolese HC. The male menopause and mood: testosterone decline and depression in the aging male – Is there a link? *J Geriatr Psychiat Neurol* 2000; 13: 93-101.
34. Martínez-Mota, L, Fernández-Guasti A. Testosterone-dependent antidepressant-like effect of noradrenergic but not of serotonergic drugs. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2004;78: 711-718
35. McNicholas T, Dean J, Mulder H, Carnegie C, Jones N. A novel testosterone gel formulation normalizes androgen levels in hypogonadal men, with improvements in body composition and sexual function. *B.J.U. Int.* 2003; 91: 69-74.

36. Mongeau R, Blier P, Montigny C. The serotonergic and noradrenergic system of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatments. *Brain Res* 1997; 23: 145-195.
37. Nemeroff C. The neurobiology of depression. *Scientific American* 1998: 42-49.
38. O'Connor D, Archer J, Hair W, Wu F. Exogenous testosterone, aggression, and mood in eugonadal and hypogonadal men. *Physiol Behav* 2002; 75: 557-566.
39. Pederna E. Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides en Comunicación neuroendocrina , bases celulares y moleculares, Sociedad Nacional de Ciencias Fisiológicas, A.C. México,1993 :33-46
40. Purves D, Augustine G, Fitzpatrick D, Katz JL, LaMantia A, McNamara J. Invitación a la neurociencia. Ed.Médica Panamericana S.A 2001, pp. 125-127.
41. Pope H, M,d, Katz D. Psychiatric Effects of exogenous anabolic-androgenic steroids in: *Psychoneuroendocrinology*. Wolkoswitz O,Rochtschild A. American Psichatric, Washington ,DC, 2003, p.p.331-360.
42. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977; 266: 730-732.
43. Roselli CE, Abdelgadir SE, Resko JA: Regulation of aromatasegene expression in the adult rat brain. *Brain Res Bull* 1997,44:351-357
44. Sandrini M, Vergoni AV, Bertolini A. [³H]Imipramine binding in discrete brain areas is affected by castration in male rats. *Brain Res*. 1989; 496: 29-34.
45. Sabed Y and Taxel P. The use of estrogen therapy in men. *Curren opinion in Farmacol*. 2003,3:650-654.
46. Schweiger U, Deuschle M, Weber B, Korner A, Lammers CH, Schmider J, Gotthardt U, Heuser I. Testosterone, gonadotropin, and cortisol secretion in male patients with major depression. *Psychosom. Med*. 1999; 61: 292-296.
47. Seidman SN, Rabkin JG. Testosterone replacement therapy for hypogonadal men with SSRI-refractory depression. *J Affect Dis* 1998; 48: 157-161.

48. Seidman SN, Walsh BT. Testosterone and depression in aging men. *Am J Geriatr Psychiat* 1999; 7: 18-33.
49. Serra M, Muggironi M, Papi V, Sari R, Spiga L, Purdy R, Biggio G. Opposite effects of short-versus long-term administration of fluoxetine on the concentration of neuroactive steroids in rat plasma and brain. *Psychopharmacol.* 2001;158:48-54.
50. Shang Y, Boja JW, Dluzen DE. Castration differentially alters [3H]nisoxetine binding to norepinephrine uptake sites in olfactory bulb and frontal cortex of male rats. *Synapse* 1999; 31: 250-255.
51. Stahl M. Stephen M.D, Ph D. Basic Psychopharmacology of Antidepressants, Par 1: Antidepressants Have Seven Distinct Mechanisms of Action. *J Clin Psychiatry* 59: 5-14, 1998.
52. Stahl M, Stephen M. D, Ph. D: Depression and Bipolar Disorders. En: Stephen M. Stahl, M. D, Ph. D. *Essential Psychopharmacology. Neuroscientific basis and Practical Application.* Cambridge University Press, 135-197, New York, 2000.
53. Strohle A, Pasini A, Romeo E, Hermann B, Spalleta G. Fluoxetine decreases concentration of 3 α ,5 α -tetrahydrodeoxycorticosterone (THDOC) in major depression. *J Clin Psychiatry res* 2000 ;34:183-186
54. Sumner BE, Fink G. Testosterone as well as estrogen increases serotonin_{2A} receptor mRNA and binding site densities in the male rat brain. *Brain Res Mol Brain Res.* 31; 59(2):205-214.
55. Tancredi A, Reginster JY, Luyckx F, Legros JJ. No major month to month variation in free testosterone levels in aging males. Minor impact on the biological diagnosis of 'andropause'. *Psychoneuroendocrinol* 2005;30: 638-646.
56. Uzunov D, Cooper T, Costa E and Guidotti A. Fluoxetine-elicited changes in brain neurosteroid content measured by negative ion mass fragmentography. *Neurobiol* 1996;93:12599-12604.
57. Wagner, GJ, Rabkin, JG, Rabkin, R. A comparative analysis of standard and alternative antidepressants in the treatment of Human Immunodeficiency Virus patients. *Com Psychiat* 1996; 37, 402-408.
58. Wallace L. Antidepresivos V.2 en F armacia Remington Ed. Médica Panamericana, Buenos aires2003.

59. Willner P, Muscat R. Animal models for investigating the symptoms of depression and the mechanism of action of antidepressant drugs in: *Animal models of psychopharmacology*. Olivier B, Mos J, Slagen JL (Eds). Birkhauser verlag. Switzerland 1994: pp 161-182.
60. Yesavage, JA, Davidson, J, Widrow, L, Berger, PA. Plasma testosterone levels, depression, sexuality, and age. *Biol Psychiat* 1985; 20: 222-225.