



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

## FACULTAD DE CIENCIAS

“Estudio comparativo de la desesperanza conductual y la  
respuesta a fármacos antidepresivos a lo largo del ciclo estral en  
ratas Wistar y Wistar Kyoto”

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:  
MARCELA CILIA GARCÍA

Tutora:

Dra. Erika Monserrat Estrada Camarena

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.

1. Datos del alumno

Cilia

García

Marcela

56 77 18 46

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

096290105

2. Datos del tutor

Dra

Erika Monserrat

Estrada

Camarena

3. Datos del sinodal 1

Dra

Carolina

López

Rubalcava

4. Datos del sinodal 2

Dra

Lucía Alba

Martínez

Mota

5. Datos del sinodal 3

Dr

José Alonso

Fernández

Guasti

6. Datos del sinodal 4

Patricia Berta Judith

De Gortari

Gallardo

7. Datos del trabajo escrito

Estudio comparativo de la desesperanza conductual y la respuesta a fármacos antidepresivos a lo largo del ciclo estral en ratas Wistar y Wistar Kyoto

87 p

2006

*Para la más valiente:*

*Para ti mamá*

## **Agradecimientos:**

Muchas gracias:

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**: por darme la oportunidad de pertenecer a ella, por ser parte importante en mi formación académica, por todo lo que me ha dado, por todas las estupendas experiencias que en ella he vivido y sobre todo por las grandes personas que ahí he conocido. Muchas gracias UNAM

A la **Dra. Erika Estrada**: por ser mi guía en esta experiencia, por tu ayuda, por tus consejos, por tu paciencia y sobre todo por tu amistad.

A la **Dra. Lucía Martínez**: por la confianza brindada, por tu ayuda, por tus consejos, por tu sinceridad, pero sobre todo por la amistad que entre nosotras surgió y me permitió conocerte más.

A mis sinodales, a la **Dra. Lucía Martínez, la Dra Carolina López, la Dra. Patricia de Gortari y el Dr. Alonso Fernández**: gracias por brindarme parte de su tiempo, por su apoyo, por las sugerencias y aportaciones que enriquecieron este trabajo. Mil gracias!

## **Dedicatorias:**

A ti, **mamá**: esto también es parte de tu esfuerzo y dedicación. Gracias por ser mi amiga, mi cómplice, por tu apoyo en todo momento, por tu tiempo, por tus consejos, por enseñarme a luchar por lo que uno quiere; pero sobre todo por tu gran amor. TE AMO MAMÁ!

A mi **abuelita** y mi **abuelito**: Gracias por todo su amor y cariño, por estar conmigo siempre, por sus consejos y por su gran apoyo a lo largo de todo este camino. Los adoro!

A mi **tío Beto**: Gracias por todo tu amor, por tu apoyo y por todos los buenos consejos que siempre me has dado. Te quiero mucho Beto!

A **Israel**: Gracias por hacerme tan feliz, por tu amor y tu apoyo incondicional. Por echarme siempre porras y mostrarme con tu ejemplo que siempre nos espera algo mejor en la vida. Te amo!

A todos **mis amigos**: a **Cesiah, Tatis, Lupe, Dianita, Martuchis, Carmen, Olga, Sofi, Pily, Charchito, Davichos, J.J, Hamster, Rafflex**, al **Kobe**. Gracias por haber compartido su amistad conmigo, por su apoyo, por su alegría, por todas las experiencias que hemos pasado juntos, por todos los buenos momentos que nunca olvidaré, pase lo que pase y este donde esté. Los quiero mucho mucho!!!

# ÍNDICE

Resumen.....	1
Capítulo I. Depresión	
1.1. Definición.....	2
1.2. Dimorfismo sexual.....	2
1.3. Farmacoterapia para el tratamiento de la depresión.....	3
Capítulo II. Sistemas de neurotransmisión relacionados a la depresión	
2.1. Serotonina.....	7
2.2. Noradrenalina.....	13
Capítulo III. Sistema Endocrino	
3.1. Características generales.....	17
3.2. Componentes del Sistema neuroendocrino.....	18
3.2.1. Hipófisis.....	18
3.2.2. Glándulas suprarrenales.....	19
3.2.3. Gónadas femeninas.....	20
3.3. Eje hipotálamo-hipófisis-gonadal.....	20
3.4. Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal.....	21

## Capítulo IV. Hormonas gonadales y depresión

4.1. Síndrome premenstrual (SPM) y desorden disfórico premenstrual (DDPM).....	23
4.2. Progesterona, estrógenos, andrógenos y depresión.....	25
4.3. Neuroesteroides como posibles moduladores del estado de ánimo.....	28

## Capítulo V. Modelos animales para el estudio de la depresión

5.1. Modelos animales.....	30
5.2. Modelo de nado forzado (FST).....	31
5.3. Cepa Wistar-Kyoto (WKY).....	33

## Capítulo VI.

6.1. Planteamiento del problema.....	36
6.2. Hipótesis.....	36
6.3. Objetivo general.....	37
6.4. Objetivos particulares.....	37

## Capítulo VII.

### Material y métodos

7.1. Procedimiento.....	38
7.1.1. Manejo de animales.....	38
7.1.2. Cirugía.....	38
7.1.3. Determinación del ciclo estral.....	38
7.2. Pruebas conductuales.....	39
7.2.1. Modelo de FST.....	39
7.2.2 Prueba de actividad ambulatoria.....	40
7.3. Fármacos utilizados.....	41

## Capítulo VIII. Diseño experimental

8.1. Experimento 1.....	42
8.2. Experimento 2.....	42
8.3. Experimento 3.....	43
8.4. Análisis estadístico.....	43

## Resultados

Experimento 1.....	44
Experimento 2.....	46
Experimento 3.....	51
Resultados de la actividad ambulatoria.....	57

Discusión.....	60
----------------	----

Conclusiones.....	70
-------------------	----

Referencias.....	71
------------------	----

## Índice de abreviaturas

**A:** adrenalina

**ACTH:** hormona corticotrópica

**AMPC:** monofosfato cíclico de adenosina\*

**ANOVA:** análisis de varianza\*

**Ca<sup>2+</sup>:** íon calcio

**CMI:** clomipramina

**DA:** dopamina

**DDPM:** desorden disfórico premenstrual

**DHEA:** dehidroepiandrosterona

**DHEAS:** sulfato de dehidroepiandrosterona

**DMI:** desipramina

**FDA:** Asociación de alimentos y drogas\*

**FST:** modelo de nado forzado \*

**GABA:** ácido gama amino butírico

**GnRH:** hormona liberadora de gonadotropina

**H-H-A:** eje hipotálamo-hipófisis-glándula-suprarrenal

**H-H-G:** eje hipotálamo-hipófisis-gónada

**IMAOs:** inhibidores de la monoamino-oxidasa

**ISRS:** inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina

**ISRNA:** inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina

**LCR:** líquido cefalorraquídeo

**MAO:** monoamino-oxidasa

**MHPG:** 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol

**NA:** noradrenalina

**NaCl:** cloruro de sodio

**NMDA:** N-metil D-aspartato

**OFT:** modelo de campo abierto\*

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**OVX:** ovariectomía

**SHR:** cepa espontáneamente hipertensas

**SNC:** sistema nervioso central

**SPM:** síndrome premenstrual

**TCA:** antidepresivos tricíclicos\*

**WKY:** cepa Wistar Kyoto

**5-HT:** 5-hidroxitriptamina

**5-HIAA:** ácido 5-hidroxi-indol acético

**8-OHDPAT:** 8-hidroxi-dipropil-aminotetralina

**3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -THP:** alopregnanolona

Las abreviaturas marcadas con un \* indican que provienen de siglas en inglés.

## RESUMEN

Los trastornos afectivos son los trastornos psiquiátricos más frecuentes que afectan a hombres y mujeres de cualquier edad y clase social. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la depresión es la principal causa de discapacidad de la población a nivel mundial. En la actualidad, 121 millones de personas sufren de depresión y la prevalencia de este trastorno ha aumentado considerablemente en las últimas décadas. En relación con esto, la OMS indica que una de cada cinco personas desarrollará un cuadro depresivo en su vida.

La depresión puede ser causada por varios factores, tanto biológicos como psicosociales, entre los factores más relacionados en la etiología de la depresión se encuentran factores genéticos, factores bioquímicos tales como alteraciones en los sistemas de neurotransmisión, alteraciones neuroendócrinas, alteraciones neurofisiológicas, entre otros.

A nivel mundial, la prevalencia es mayor en mujeres que en hombres y se ha encontrado que individuos del sexo femenino son más vulnerables a padecer ciertos trastornos afectivos, como la depresión durante etapas caracterizadas por fluctuaciones hormonales, como la fase lútea tardía del ciclo menstrual, el periodo post-parto y la perimenopausia.

El presente trabajo explora la relación entre la depresión experimental y las diferentes condiciones endocrinas de la rata. Esta relación es comparada entre ratas de dos cepas diferentes: ratas Wistar Kyoto, una cepa que se caracteriza por alta reactividad al estrés y ratas Wistar, consideradas normales ante tales condiciones. De la misma forma, investigamos los posibles cambios en la respuesta a los antidepresivos tricíclicos, clomipramina y desipramina, por la dosis administrada y por condición endocrina.

# **CAPÍTULO I: DEPRESIÓN**

## **1.1. Definición:**

Según el manual estadístico y diagnóstico de enfermedades mentales (DSM-IV), la depresión es un trastorno afectivo que se caracteriza por la presencia de sentimientos de tristeza, estado de ánimo decaído, desesperanza, abandono e ideas recurrentes de suicidio.

Esta patología está acompañada de reacciones vegetativas como alteraciones en el sueño, en el apetito y de síntomas físicos como dolor de cabeza, alteraciones gastrointestinales y tensión muscular. La depresión afecta a una gran parte de la población mundial; estudios epidemiológicos recientes revelan que cerca del 21% de la población mundial han experimentado al menos un estado depresivo (Nemeroff, 1998). En nuestro país, en un estudio realizado por Caraveo-Anduaga (1999) en la ciudad de México, se encontró que el 8 % de la población padece depresión, estimando que este porcentaje puede incrementar considerablemente en los próximos años.

## **1.2. Dimorfismo sexual:**

Muchos factores se han asociado a la aparición de la depresión tales como edad, historia familiar, entre otros, siendo muy importante el sexo al que pertenece el individuo que la padece. La depresión afecta con mayor frecuencia a las mujeres que a los hombres; por cada hombre con depresión hay de dos a tres mujeres que la presentan (Epperson, 2000). Se ha propuesto que la alta vulnerabilidad de las mujeres a desarrollar algún trastorno afectivo, puede ser causada por predisposición genética (Epperson, 2000; Steiner y cols, 2003). Además se ha visto que las mujeres presentan una gran vulnerabilidad para desarrollar algún trastorno afectivo a lo largo de su vida, ya que diversas investigaciones sustentan que en etapas como la fase lútea tardía del ciclo menstrual, el periodo post-parto y la perimenopausia, caracterizadas por cambios bruscos de las hormonas gonadales aparece un aumento de la irritabilidad y episodios de depresión. De hecho se considera que estas variaciones parecieran estar ligadas a las oscilaciones hormonales que ocurren en la etapa reproductiva de la mujer (Halbreich, 2001). En este sentido se sabe que las concentraciones

de estrógenos y progesterona varían significativamente a lo largo de la vida en las mujeres; dichas variaciones inician en la pubertad cuando se establece el ciclo menstrual, en el cual tales hormonas fluctúan cada 28 días en promedio. Estas fluctuaciones continúan a lo largo de los años reproductivos y en algunas mujeres se han descrito episodios de ansiedad y depresión ligados al ciclo menstrual, durante el periodo post-parto y en la perimenopausia (Nemeroff, 1999).

### **1.3. Farmacoterapia para el tratamiento de la depresión:**

El primer descubrimiento de los antidepresivos fue por casualidad a través de observaciones clínicas, en los años 1950's, donde se utilizaba la iproniazida para tratar la tuberculosis y observaron que ésta mejoraba notablemente el estado de ánimo. Tales observaciones propiciaron que se realizaran varios estudios para encontrar las propiedades antidepresivas de este fármaco y descubrieron que tenía la habilidad para inhibir la acción de la enzima monoamino-oxidasa (MAO), la cual se encarga del catabolismo de las monoaminas (NA, DA y 5-HT).

La farmacoterapia para tratar los desórdenes depresivos se clasifica de manera general tomando en cuenta el mecanismo de acción de los fármacos antidepresivos (Stahl, 2000) (Ver Tabla 1), en esta clasificación se identifican los siguientes grupos de antidepresivos:

- **Inhibidores de la MAO:**

Los inhibidores de la MAO (IMAOs) pueden clasificarse como no selectivos, que inhiben las dos isoformas de la enzima MAO ( MAO-A y MAO-B); ese mecanismo es irreversible y los más comunes son la fenelzina, la pargilina, entre otros.

Por otra parte existe un grupo de IMAOs que es selectivo y reversible y entre estos fármacos se encuentra la moclobemida, que inhibe la MAO-A. Estos fármacos son poco usados para el tratamiento de la depresión por sus efectos secundarios como ganancia de peso, dolores de cabeza, náusea, retención de agua, etc (Stahl, 2000).

- **Antidepresivos tricíclicos:**

Este grupo de antidepresivos se clasifica así por una estructura química de tres anillos, tienen afinidad por receptores adrenérgicos (antagonistas  $\alpha 1$ ), muscarínicos e histaminérgicos (antagonistas H1).

Estos fármacos actúan principalmente bloqueando la recaptura de serotonina o de noradrenalina, ejemplos de estos fármacos son la CMI, un inhibidor del transportador de 5-HT y la DMI, que es un inhibidor de la recaptura de NA, también dentro de este grupo se incluyen a la imipramina, trimipramina, doxepina y nortripina (Ver Tabla 1).

Entre los efectos secundarios que provocan estos fármacos están la sequedad bucal, constipación, visión borrosa, retención urinaria, taquicardia provocada por el bloqueo de receptores muscarínicos, así mismo, el bloqueo de receptores histaminérgicos H1 provoca hipotensión, sedación y ganancia de peso corporal (Stahl, 2000).

- **Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS):**

Este grupo de fármacos se conoce también como de segunda generación y actualmente son los medicamentos más elegidos para el tratamiento de la depresión ya que se consideran más seguros debido a que no tienen efectos anticolinérgicos y la tolerancia a presentar efectos colaterales es mayor.

A este grupo pertenecen la fluoxetina, la paroxetina, el citalopram, la sertralina y la fluvoxamina (Ver Tabla 1). Además estos fármacos son efectivos para el tratamiento de desórdenes de pánico, bulimia, desorden disfórico premenstrual, desórdenes por estrés post-traumático por mencionar algunos (Stahl, 2000).

Entre los efectos colaterales de estos antidepresivos están la disfunción sexual, ansiedad al inicio del tratamiento, náusea y alteraciones en el sueño (Stahl, 1998, 2000). En general, los ISRS inhiben la recaptura de 5-HT y como resultado permanece más tiempo en el espacio sináptico y así puede ser reconocido una y otra vez por los receptores presentes en la región postsináptica.

El mecanismo de acción de los ISRS se da en varios niveles:

Al inicio del tratamiento los ISRS bloquean al transportador de 5-HT y aumentan el contenido 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<sub>1A</sub> y de los autorreceptores 5-HT<sub>1B</sub> 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 receptores post-sinápticos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub> (Davis, Charney, Coyle, Nemeroff, 2002).

- **Inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (ISRN):**

En este grupo de fármacos se encuentra sólo un fármaco, el bupropión que es el único capaz de actuar selectivamente sobre la recaptura de NA y DA, se ha propuesto que este compuesto incrementa la concentración de catecolaminas en áreas donde supuestamente existen deficiencias en los niveles de NA y de DA; los efectos colaterales que presenta el bupropión están insomnio, náusea, dolor de cabeza, entre otros (Stahl, 2000).

- **Inhibidores de la recaptura de 5-HT, NA y DA:**

Dentro de este grupo solamente se encuentra la venlafaxina, que dependiendo de la dosis inhibe la recaptura de 5-HT (a dosis bajas), de NA (a dosis medias) y de DA (a dosis altas). Los efectos colaterales que provoca son algunos de los ISRS y de los ISRN; además tiene baja afinidad por receptores a histamina y a acetilcolina (Stahl, 2000).

**Tabla 1. Clasificación de las terapias antidepresivas**

<b>TIPO DE ANTIDEPRESIVO</b>	<b>MECANISMO DE ACCIÓN</b>	<b>EFECTOS SECUNDARIOS</b>	<b>EJEMPLOS</b>
Inhibidores de la MAO (IMAO's)	Inhiben la actividad de la MAO-A o de la MAO-B (no selectivos y no reversibles)  Inhiben la MAO-A (reversibles)	Dolor de cabeza, náusea, vómito, sequedad bucal, inhiben el metabolismo de ciertos fármacos	Iproniazida Fenelzina (Nardil) Pargilina Isocarboxacida (Marplan)  Clorgilina Moclobemida (Aurorex)
Tricíclicos (TCA)	Inhiben la MAO-B (reversible), inhiben la recaptura de 5-HT o de NA, antagonistas $\alpha$ -1, antagonistas H1, inhiben canales de Na <sup>+</sup>	Sequedad bucal, visión borrosa, constipación, retención urinaria, daño en la memoria, taquicardia, hipotensión, ganancia de peso, sedación. Potencian el efecto de fármacos depresores en el SNC.	Imipramina (Trofanil) Clomipramina (Anafranil) Doxepina (Sinequan) Desipramina (Norpramin) Nortriptilina (Aventil)
Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS)	Inhiben al transportador de 5-HT, desensibilizan al autorreceptor 5-HT <sub>1A</sub> , 5-HT <sub>1B</sub>	Disfunción sexual, alteraciones en el sueño, náusea, constipación, sequedad bucal, ansiedad al inicio del tratamiento. Sin efectos anticolinérgicos y cardiotoxicos.	Citalopram (Cipramil) Sertralina (Zoloft, Sertex) Fluoxetina (Prozac) Paroxetina (Paxil, Aropax) Fluvoxamina (Luvox)
Inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (ISRN)	Inhiben la recaptura de NA	Náusea, insomnio, ganancia de peso, dolor de cabeza, pocos efectos cardiotoxicos y anticolinérgicos.	Bupropión (Wellbutrin)
Terapias combinadas (Inhibidores de la recaptura de 5-HT, NA y DA)	Dependiendo de la dosis, inhiben al transportador de 5-HT a dosis bajas, a dosis medias al transportador de NA y a dosis altas al transportador de DA	Presentan los efectos secundarios de los ISRS y de los ISRN, sedación y sudoración.	Venlafaxina (Efexor)

Datos tomados de Davis y cols. 2002; Stahl, 2000.

## **CAPÍTULO II: SISTEMAS DE NEUROTRANSMISIÓN Y DEPRESIÓN**

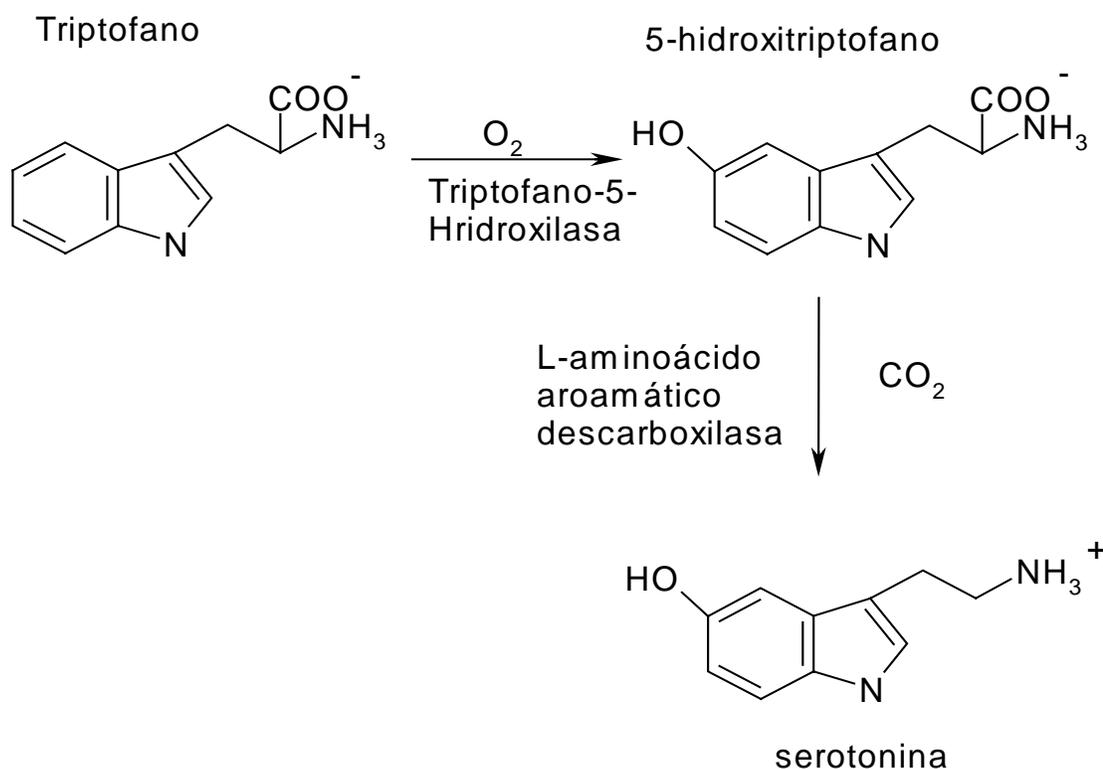
En el SNC, la información se transmite entre dos neuronas por medio de la sinapsis; las neuronas presinápticas envían la información a través de la liberación de diversos neurotransmisores en el espacio sináptico, éstos son reconocidos por moléculas receptoras ubicadas en la superficie de la neurona postsináptica. Alrededor del 10% de neurotransmisor es perdido en el proceso de reconocimiento, pero el otro 90% es liberado al espacio sináptico para ser recapturado por transportadores con la finalidad de que entre al ciclo de síntesis de *novo* en la región presináptica.

En términos de neurotransmisión, la depresión se traduce como una carencia en la estimulación de la neurona postsináptica, con base en esto, se han relacionado diversos sistemas de neurotransmisión que parecen tener una regulación alterada y que por tanto, podrían estar ligados a la aparición de la depresión tales como el serotoninérgico y catecolaminérgico (Hu y cols, 2004).

### **2.1. Serotonina**

La 5-HT es una indolamina que es sintetizada a partir del aminoácido triptofano, el L-triptofano es hidroxilado por la acción de la enzima triptofano- hidroxilasa , que lo convierte a 5-hidroxitriptofano y después se activa una enzima descarboxilasa y genera 5-hidroxitriptamina (5-HT) (Ver Figura 1).

La 5-HT ha sido relacionada con casi todas las funciones fisiológicas y conductuales, como por ejemplo en la agresión, función endocrina, regulación del apetito, función gastrointestinal, actividad motriz, percepción, función sensorial, en la conducta sexual, regulación del sueño, función vascular, cognición y en la modulación algunos trastornos afectivos (Bloom y Kupfer, 1995).

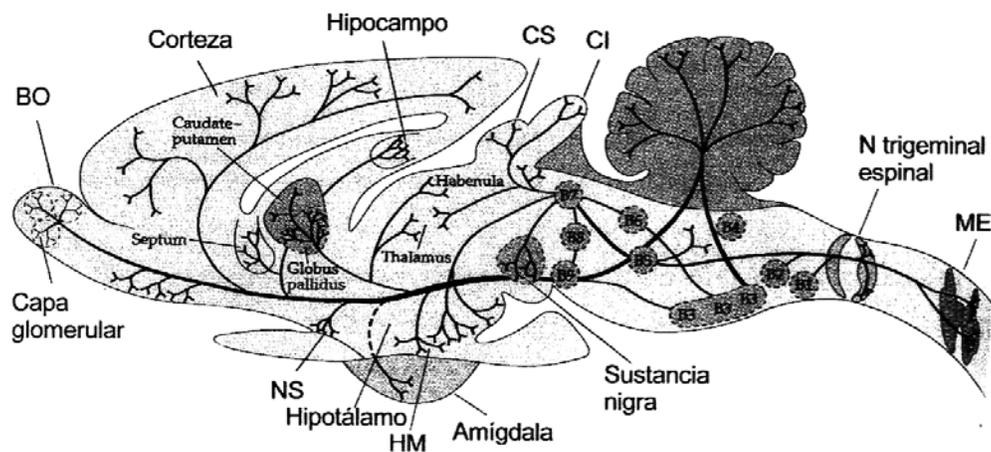


**Figura 1. Síntesis de la 5-HT a partir del aminoácido triptofano.**

El hecho de que la 5-HT esté implicada en la modulación de tantas funciones se debe al arreglo anatómico del sistema serotoninérgico, ya que las principales regiones donde se encuentran la mayoría de los somas de las neuronas serotoninérgicas (Fuxe, 1964), se localizan en los núcleos del rafé y en la formación reticular del tallo cerebral que envían sus proyecciones a diversas estructuras del SNC. Las vías serotoninérgicas se dividen en dos partes: 1) la parte caudal del tallo cerebral (B1 – B4), forma vías descendentes ya que tiene proyecciones hacia la médula espinal y 2) la parte rostral del tallo cerebral (B5 – B9), que incluye a las neuronas del rafé dorsal y medial las cuales se dividen a su vez formando dos tipos de vías ascendentes (Ver Figura 2).

Vía ascendente ventral (B6,B7 y B8) proyectan hacia el sistema límbico, el hipotálamo, la amígdala, septum, bulbo olfatorio, ganglios basales, sustancia nigra, corteza, hipocampo y núcleo accumbens.

Vía ascendente dorsal, (B8 y B9) proyectan hacia la sustancia gris mesencefálica y hacia los colículos superiores e inferiores.



**Figura 2. Principales vías serotoninérgicas en el sistema nervioso de la rata. Tomado de Feldman y cols, 1996.**

La 5-HT es sintetizada en la presinapsis, donde es almacenada en vesículas. La 5-HT puede ser liberada y ejercer su acción en la postsinapsis por un mecanismo de recaptura la 5-HT regresa a la presinapsis y puede ser degradada o reutilizada. El mecanismo de acción de la 5-HT está dada por receptores que pueden ser de dos tipos: ionotrópicos, que están acoplados a canales iónicos operados por el ligando y metabotrópicos, que se encuentran acoplados a proteínas G. Solamente el receptor 5-HT<sub>3</sub> se encuentra acoplado a canal iónico y el resto de los receptores (5-HT<sub>1</sub>, 2, 3, 4, 5, 6, 7) son receptores metabotrópicos (Peroutka, 1996).

Se han descrito 16 tipos diferentes de receptores para 5-HT, los cuales han sido clonados en diferentes tejidos de mamíferos (Peroutka, 1996).

Durante la década de los noventa, las técnicas de clonación molecular confirmaron los diferentes subtipos de receptores para 5-HT que ya habían sido descritos utilizando técnicas de unión a ligando y estudios funcionales como los 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>.

Este hallazgo ha permitido que se pueda conocer de manera más precisa a qué nivel actúan los diferentes subtipos de receptores de 5-HT, además de que se puede determinar la función de receptores que no se conocían antes como 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub> (Bloom y Kupfer, 1995; Davis y cols, 2002). En la tabla 2 se describen los diferentes tipos de receptores para 5-HT.

En las últimas décadas diversos grupos de investigación se han enfocado al estudio de la relación del sistema serotoninérgico con la aparición de la depresión y existen varias evidencias que respaldan la propuesta de que en la depresión este sistema se encuentra alterado, ya que en estudios en clínica se ha encontrado que pacientes con depresión mayor presentan niveles bajos del triptofano, el aminoácido precursor de la síntesis de 5-HT (Maes y cols, 1990), además se han reportado alteraciones en los niveles del ácido 5-hidroxi-indol acético (5-HIAA), el principal metabolito de la 5-HT, ya que algunos estudios reportan niveles bajos de 5-HIAA en individuos suicidas (Van Praag, 1982). Esto sugiere en conjunto que en la depresión, la concentración de 5-HT se encuentra disminuida y ésta podría ser una causa de esta patología.

Asimismo, se han realizado estudios en donde se evalúa la actividad del transportador de 5-HT y de algunos receptores serotoninérgicos, como el 5-HT<sub>2A</sub> y el 5-HT<sub>1A</sub>. En lo que respecta al transportador de 5-HT, los estudios realizados con pacientes deprimidos muestran una disminución del número y la afinidad del transportador de 5-HT (Ellis y Salmond, 1994).

En relación con el receptor 5-HT<sub>2A</sub> existen estudios en plaquetas y en el sistema nervioso central que señalan el aumento en la unión a este receptor en individuos deprimidos (Biegon, 1990), además estudios básicos y en clínica muestran que antagonistas del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, como la mianserina y la nefazodona tienen efectos antidepresivos (Stahl, 2000).

Finalmente, el receptor 5-HT<sub>1A</sub> es el receptor serotoninérgico más estudiado, tanto en humano como en estudios básicos y se ha reportado que fármacos que se comportan como agonistas parciales a este receptor, como la buspirona y la gepirona, son antidepresivos (Artigas y cols, 1997). Este resultado se encuentra también en diversos modelos animales como la prueba de nado forzado, en el que se encontró que agonistas

como el 8-OH-DPAT y el indorrenato ejercen un efecto antidepresivo (Lucki y cols, 1994; Martínez-Mota y cols, 2002).

Por último, estudios recientes proponen a otros receptores serotoninérgicos como mediadores del efecto antidepresivo, como ejemplo de esto el receptor 5-HT<sub>1B</sub> que es desensibilizado después del tratamiento crónico con ISRS (Millan y cols, 1998).

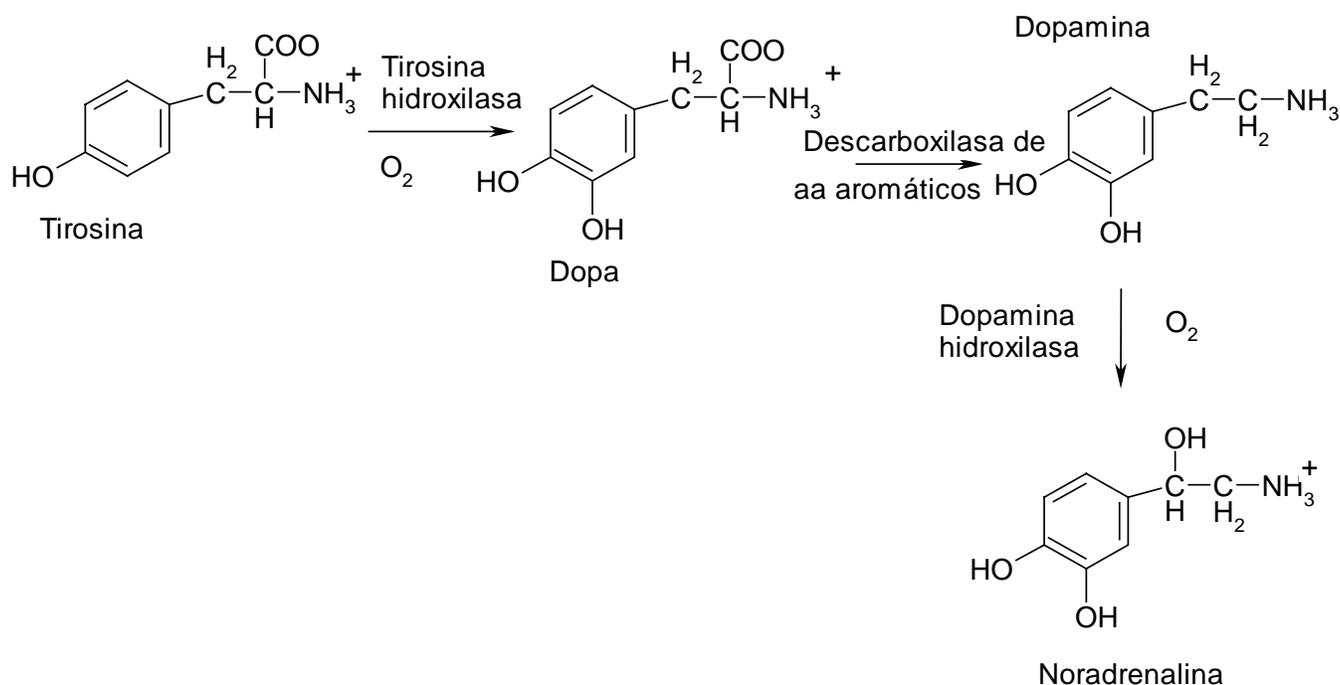
**Tabla 2. Clasificación de los receptores para serotonina**

Tipo de receptor	Subtipo	Mecanismo de acción	Agonistas	Antagonistas	Distribución
5-HT <sub>1</sub>	5-HT <sub>1A</sub>	Inhibe la formación de AMPc, aumenta la concentración de Ca <sup>2+</sup>	8-OH-DPAT U92016A	WAY100635	Hipocampo, septum, amígdala, núcleo del rafe.
5-HT <sub>1</sub>	5-HT <sub>1B</sub>	Inhibe la formación de AMPc	-----	GR55562 SB216641	Cuerpo estriado, hipocampo,, substancia nigra. Núcleo del rafe, médula espinal.
5-HT <sub>1</sub>	5-HT <sub>1D</sub>	Inhibe la formación de AMPc, aumento en los niveles de Ca <sup>2+</sup>	-----	BRL15572	Cuerpo estriado, rafe dorsal, hipocampo, caudado-putamen
5-HT <sub>1</sub>	5-HT <sub>1e</sub>	Inhibe la formación de AMPc	LY334370 LY344864	-----	Corteza, tálamo, bulbo olfatorio, hipocampo, médula espinal, útero.
5-HT <sub>2</sub>	5-HT <sub>2A</sub>	Acoplado a proteínas G incrementa los niveles de Ca <sup>2+</sup>	No selectivo (+/-) DOI	Ketarseína MDL100907	Hipocampo, corteza, cuerpo estriado, bulbo olfatorio, tracto gastrointestinal, médula espinal.
5HT <sub>2</sub>	5-HT <sub>2B</sub>	Acoplado a proteínas G, eleva niveles de Ca <sup>2+</sup>	BW723C86	-----	Estómago, íleon, endotelio, útero.
5HT <sub>2</sub>	5-HT <sub>2C</sub>	Acoplado a proteínas G, aumenta hidrólisis deIP <sub>3</sub> , y aumenta niveles de Ca <sup>2+</sup>	-----	RS102221	Plexos coroideos, médula espinal, puente, cuerpo estriado, hipocampo, hipotálamo.
5HT <sub>3</sub>	-----	Acoplado a canal iónico, aumenta niveles de Ca <sup>2+</sup>	2-Me-5-HT	Tropisetron Granisetron Ondansetron	Cuerpo estriado, hipocampo, substancia nigra, globo pálido.
5HT <sub>4</sub>	-----	Acoplado a proteínas G, aumenta la formación de AMPc	BIMU8 ML10302 SC53116	GR113808 SB204070	Tallo cerebral, tálamo, hipocampo, bulbo olfatorio.
5HT <sub>5</sub>	5-HT <sub>5a</sub>	Acoplado a proteínas G, aumenta la formación de AMPc	-----	-----	Hipocampo, corteza, cerebelo, bulbo olfatorio, médula espinal.
5HT <sub>5</sub>	5-HT <sub>5b</sub>	No está definido	-----	-----	Hipocampo, corteza, cerebelo, bulbo olfatorio, habénula, médula espinal.
5HT <sub>6</sub>	-----	Acoplado a proteínas G, aumenta la formación de AMPc	-----	Ro046790 Ro630563 Clozapina	Caudado-putamen, bulbo olfatorio, corteza, hipocampo.
5HT <sub>7</sub>	-----	Acoplado a proteínas G, aumenta la formación de AMPc	-----	SB258719 Clozapina espiperona	Hipocampo, hipotálamo, tálamo, núcleo del rafe,

Datos tomados de Davis y cols, 2002; Stahl, 2000.

## 2.2. Noradrenalina

La NA es una catecolamina, un neurotransmisor que posee un grupo catecol y un grupo etil-amino o uno de sus derivados. Las catecolaminas más importantes son DA, A y la NA. Las catecolaminas son sintetizadas a partir de la tirosina que es hidroxilado a L-DOPA por medio de la acción de la enzima tirosina 3-mono-oxigenasa, después se forma DA a partir de la L-DOPA a través de una descarboxilación, esta reacción es catalizada por la enzima L-d Descarboxilasa; para formar NA a partir de DA se incorpora un grupo hidroxilo a la cadena etil-amino, dando lugar a la formación de NA; esta reacción es catalizada por la enzima dopamina-β-hidroxilasa. Finalmente, la NA es transformada en A a través de un proceso de N-metilación llevada a cabo por la enzima fenil-etanol-amina N-metil-transferasa (Feldman y cols, 1996) (Ver Figura 3).



**Figura 3. Síntesis de la NA a partir del aminoácido tirosina.**

Las principales regiones que contienen catecolaminas se originan en la sustancia nigra, en el área tegmental ventral, en el caso de la NA en el locus coeruleus, el núcleo del tracto solitario y en el sistema lateral tegmental, de acuerdo con la nomenclatura, los grupos celulares A1 al A7 corresponden a neuronas noradrenérgicas (Fuxe, 1964); estos grupos de



deprimidos presentan niveles más bajos de MHPG, un metabolito de la noradrenalina (Maas y cols, 1972; Schildkraut, 1973) en comparación con individuos sanos (Maas y cols, 1972). Además a nivel de receptores, se observan cambios importantes, ya que algunos reportes mencionan un aumento en la densidad del receptor  $\alpha_2$  adrenérgico presente en plaquetas de pacientes deprimidos sin tratamiento (Meana y cols. 1992). Estos descubrimientos permitieron proponer que un aumento en la regulación de los receptores  $\alpha_2$  es un reflejo de la disminución en la actividad de las neuronas noradrenérgicas y esto conduce a una liberación reducida de NA en el sistema nervioso central. Al mismo tiempo, se ha propuesto que el receptor  $\beta$ -adrenérgico también puede estar participando en la fisiopatología de la depresión así como en el mecanismo de acción de los antidepresivos, sin embargo esto es inconsistente aún, ya que algunos estudios reportan que uno de los efectos de algunos tratamientos antidepresivos es una regulación a la baja de los receptores  $\beta$  debida a la disminución del número de receptores o por un desacoplamiento de estos receptores con su sistema de transducción (Garlow y cols, 2001), pero también otros estudios señalan una regulación a la alta de los receptores  $\beta$  (Duman, 2000).

**Tabla 3. Clasificación de los receptores para noradrenalina**

Tipo receptor	de	Subtipo	Mecanismo de acción	Agonistas	Antagonistas	Distribución
$\alpha$ -1		$\alpha$ <sub>1A</sub>	Activa proteína G, incrementa niveles de Ca <sup>2+</sup> .	Oximetazolina A61603	Niguldipina 5-metil urapidil	Cerebro, próstata, vaso deferente, corazón, vasos sanguíneos.
$\alpha$ -1		$\alpha$ <sub>1B</sub>	Activa proteína G, eleva niveles de Ca <sup>2+</sup> , activa canales de Ca <sup>2+</sup> .	-----	Cloroetilclonidina	Corazón, bazo, vasos sanguíneos, riñón.
$\alpha$ -1		$\alpha$ <sub>1D</sub>	Activa proteína G y eleva niveles de Ca <sup>2+</sup> .	-----	BMY7378 SKF105854	Cerebro, aorta (en rata), vasos sanguíneos.
$\alpha$ -2		$\alpha$ <sub>2A</sub>	Activa proteína G, inhibe la adenilato ciclasa, disminuye niveles de AMPc.	Oximetazolina Guafacina	BRL44408 BRL48962	
$\alpha$ -2		$\alpha$ <sub>2B</sub>	Activa proteína G, inhibe la adenilato ciclasa, disminuye niveles de AMPc.	$\alpha$ -metilnoradrenalina Clonidina	Imiloxan	Bazo, corazón, riñón, hígado, tálamo, septum, cerebelo.
$\alpha$ -2		$\alpha$ <sub>2C</sub>	Activa proteína G, inhibe la adenilato ciclasa, disminuye niveles de AMPc.	$\alpha$ -metilnoradrenalina Clonidina	Rauwolscina WB4101	Cerebro, corazón, pulmones.
$\beta$ -1		-----	Activa proteína G, estimula la adenilato ciclasa ,	Denopamina Xamoterol	Atenolol Bisoprolol Betaxolol	Corteza, hipocampo, diencéfalo, cerebelo.
$\beta$ -2		-----	Activación de proteína G, estimulación o inhibición de adenilato ciclasa.	Salmeterol Fenoterol	ICI118551	Cerebelo, corteza, hipocampo, tálamo, hipotálamo.
$\beta$ -3		-----	Activación de proteína G, estimulación o inhibición de adenilato ciclasa.	BRL37344 CGP12177	SR59230A	Intestino, próstata, estómago.
$\beta$ -4		-----	Acoplado a proteína G, incrementa niveles de AMPc.	-----	-----	Adipocitos, miocardio, colon.

Datos tomados de Davis y cols, 2002; Stahl, 2000.

## **CAPÍTULO III: SISTEMA ENDOCRINO**

El organismo tiene diferentes sistemas de comunicación como lo son el Sistema Nervioso, el Sistema Inmune y el Sistema Endocrino, cada uno de ellos utiliza sus propios tipos de mensajeros químicos. Las células nerviosas utilizan para comunicarse entre ellas la liberación de diversos neurotransmisores, en la linfa se da la liberación de citocinas y de las glándulas se liberan hormonas. Estos tres sistemas no son independientes, sino que cada uno interactúa con los otros dos (Hall y O'Grady, 1989). Por el hecho de que estos sistemas interactúan se refieren a ellos como Sistema Neuroinmune y Neuroendocrino (Blalock, 1989) siendo éste último al que nos referiremos en este capítulo.

### **3.1. Características generales**

El sistema endocrino es uno de los sistemas principales que tiene el cuerpo para comunicar, controlar y coordinar el funcionamiento del organismo; trabaja con el sistema nervioso, el reproductivo, con los riñones, intestinos y el hígado para ayudar a mantener y controlar diversas funciones tales como: mantener en equilibrio las condiciones internas del cuerpo (homeostasis), la reproducción, el crecimiento y el desarrollo, las reacciones a las condiciones del ambiente, al estrés y a las lesiones (Müller y Nistico, 1989). El sistema endocrino desempeña estas tareas por medio de una red de glándulas y órganos que producen y secretan ciertas hormonas.

Una hormona es una molécula orgánica que es sintetizada por una célula o un grupo de ellas en una parte del organismo que, en el caso de los vertebrados difunde o es transportada por el torrente sanguíneo hacia otra parte del organismo donde ejerce un efecto específico sobre algún tejido u órgano blanco. Las hormonas en general son de tres tipos químicos: esteroides, péptidos (o proteínas) o derivados de aminoácidos (monoaminas).

Característicamente son activas en pequeñas cantidades, por el potencial químico que poseen. La liberación de las hormonas se encuentran bajo estrecho control: un aspecto involucra la regulación de su producción por retroalimentación negativa (un mecanismo que tiene pocas excepciones), que es el mecanismo de control por el cual el aumento de alguna sustancia inhibe el proceso que conduce a ese aumento (Guyton A, 1996). Otro aspecto igualmente importante es que las hormonas son rápidamente degradadas: los

esteroides, los péptidos y proteínas son desdoblados por el hígado y las aminas por enzimas en la sangre. En el cuerpo de los vertebrados las principales glándulas son: la hipófisis, la tiroides, las paratiroides, las glándulas suprarrenales, la glándula pineal, el páncreas, los ovarios, los testículos, la placenta y otros órganos como el aparato digestivo (Ver tabla 5).

### **3.2. Componentes del Sistema Neuroendocrino**

Las hormonas son producidas en las glándulas, tejidos epiteliales especializados para la secreción. Los tejidos que producen hormonas se pueden clasificar en dos grupos: glándulas endocrinas, cuya función es la producción exclusiva de hormonas, y las glándulas exocrinas, que liberan sus secreciones sobre la superficie interna o externa de los tejidos cutáneos, la mucosa del estómago o el revestimiento de los conductos pancreáticos. Las hormonas secretadas por las glándulas endocrinas regulan el crecimiento, el desarrollo y las funciones de muchos tejidos, y coordinan los procesos metabólicos del organismo.

La endocrinología es la disciplina que estudia las glándulas endocrinas, las sustancias hormonales que producen estas glándulas, sus efectos fisiológicos, así como las enfermedades y trastornos debidos a alteraciones de su función (Brown, 1999).

La secreción de las hormonas está regulada por factores liberadores de hormonas que son liberados del hipotálamo hacia la hipófisis, por medio del pedúnculo hipofisiario; la hipófisis anterior y posterior están sujetas a control hipotalámico (Ver Tabla 4).

A continuación se describe a algunas de las glándulas que forman el Sistema Endocrino, así como las hormonas que secretan:

#### **3.2.1. Hipófisis:**

La hipófisis es una pequeña glándula que se encuentra situada sobre la base del cráneo, en el hueso esfenoides, en una cavidad denominada “silla turca”; está directamente comunicada con el hipotálamo por medio del pedúnculo hipofisiario, tiene un diámetro de 1 cm y 0.5 cm de altura; está formada por tres lóbulos: el anterior, el intermedio, que en los

primates sólo existe durante un corto periodo de la vida, y el posterior, localizado en la base del cerebro.

En la década de 1970, los científicos observaron que la hipófisis anterior también producía sustancias llamadas endorfinas, que son péptidos que actúan sobre el sistema nervioso central y periférico para reducir la sensibilidad al dolor (Brown, 1999). Mientras que el lóbulo posterior secreta oxitocina y vasopresina, ambas hormonas tienen una estructura química bastante sencilla y similar constituida cada una por nueve residuos de aminoácidos (Purves y cols, 2001). Por su parte, la principal función de la oxitocina es la de estimular las contracciones del útero durante el parto. La oxitocina además, estimula la expulsión de leche de las mamas. A pesar de que esta hormona también es secretada por el hombre se desconoce se ignora si existen acciones biológicas y cuáles son (Brown, 1999).

La vasopresina u hormona antidiurética, actúa regulando la concentración de iones en la sangre, es liberada por señales hipotalámicas en respuesta a cambios en la osmolaridad sérica o volumen sanguíneo (Brown, 1999).

### **3.2.2. Glándulas suprarrenales:**

Otras glándulas de gran importancia para el funcionamiento del organismo son las glándulas suprarrenales, cada glándula suprarrenal está formada por una zona interna denominada médula y una zona externa que recibe el nombre de corteza. Las dos glándulas se localizan sobre los riñones.

La médula suprarrenal produce A y NA, que afectan a un gran número de funciones del organismo. Estas sustancias estimulan la frecuencia cardíaca, aumentan la presión arterial, y actúan sobre la contracción y dilatación de los vasos sanguíneos y la musculatura.

La A eleva la concentración de glucosa en sangre, todas estas acciones ayudan al organismo a enfrentarse a situaciones de urgencia de forma más eficaz.

La corteza suprarrenal es capaz de sintetizar glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos. El cortisol es el glucocorticoide más importante en el humano, el cortisol y los

demás glucocorticoides están relacionados con la formación de glucosa a partir de proteínas y lípidos, su liberación aumenta durante los periodos de estrés. Por otra parte, los mineralocorticoides, como la aldosterona, están relacionados con la regulación iónica, particularmente con iones sodio y potasio; los mineralocorticoides afectan el transporte de iones a través de las membranas de las células que componen la nefrona. Las secreciones suprarrenales regulan el equilibrio de agua y sal del organismo, influyen sobre la tensión arterial, actúan sobre el tejido linfático, influyen sobre los mecanismos del metabolismo de carbohidratos y de proteínas. Además, las glándulas suprarrenales también producen pequeñas cantidades de hormonas masculinas y femeninas (Guyton, 1996; Brown, 1999).

### **3.2.3. Gónadas femeninas:**

Los ovarios son los órganos femeninos de la reproducción, o gónadas femeninas; son estructuras pares con forma de almendra situadas a ambos lados del útero. Los folículos ováricos producen óvulos y también secretan un grupo de hormonas, los estrógenos, necesarios para el desarrollo de los órganos reproductores y de las características sexuales secundarias, como distribución de la grasa, amplitud de la pelvis, crecimiento de las mamas, vello púbico y axilar.

La progesterona, hormona secretada por los ovarios, actúa principalmente durante la segunda mitad del ciclo menstrual estimulando el crecimiento del cuerpo lúteo, también ejerce su acción sobre la mucosa uterina en el mantenimiento del embarazo, actúa junto a los estrógenos favoreciendo el crecimiento y la elasticidad de la vagina. Los ovarios también elaboran una hormona llamada relaxina, la cual tiene la misma función que la oxitocina ya que actúa sobre los ligamentos de la pelvis y el cuello del útero y provoca su relajación durante el parto, facilitando de esta forma el alumbramiento (Guyton, 1996).

### **3.3. Eje hipotálamo-hipófisis –gonadal:**

El eje H-H-G controla la síntesis hormonal ovárica a través de factores liberadores (GnRH) y hormonas gonadotropicas (LH, FSH); los esteroides ováricos ejercen una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la hipófisis (Hardman y cols, 1997).

Este sistema (H-H-G) está dividido en cinco niveles de integración:

Primer Nivel: Radica en el hipotálamo, donde están las neuronas, que registran la variación en los niveles de esteroides sexuales ováricos.

Segundo Nivel: Es la región del hipotálamo denominada área hipofisotrópica, cuyas neuronas (peptidérgicas) producen péptidos de acción hormonal, entre ellos la hormona Gn-RH. La integración entre ambos niveles se efectúa mediante sinapsis entre sus respectivas neuronas.

Tercer Nivel: Se sitúa en la adenohipófisis, cuyas células, son estimuladas por la Gn-RH para producir las hormonas gonadotrópicas LH y FSH. La Gn-RH llega a la adenohipófisis por medio de los vasos de la circulación portal.

Cuarto Nivel: Se encuentra en el ovario, donde las gonadotropinas promoverán el desarrollo folicular. Las hormonas ováricas cierran el círculo al actuar sobre el primer nivel. Las mismas también actúan sobre el quinto nivel de integración.

Quinto Nivel: Situado en los efectores periféricos (órganos y tejidos). Este es el nivel de integración (Hardman y cols, 1997).

### **3.4. Eje hipotálamo-hipófisis-glándulas adrenales:**

Las fluctuaciones de las velocidades de secreción de glucocorticoides en las glándulas adrenales están determinadas por fluctuaciones de la liberación de la ACTH por las células corticotropicas de la hipofisis anterior. Estos a su vez, están regulados por la CRH, péptido generado por neuronas del hipotálamo que contienen CRH. Estos tres órganos se denominan en conjunto eje H-H-A, y su principal función es regular las concentraciones apropiadas de glucocorticoides en el organismo.

Existen tres puntos característicos de regulación del eje: ritmo diurno de la esteroidogénesis basal, regulación por retroalimentación negativa por glucocorticoides adrenales e incrementos notorios de la esteroidogénesis en respuesta al estrés (Chrousos, 1995).

El ritmo diurno depende de centros neuronales superiores que reaccionan a ciclos de sueño-vigilia, de modo que las cifras de ACTH son máximas durante las primeras horas de

la mañana, lo cual hace que las concentraciones circulantes de glucocorticoides alcancen un máximo alrededor de las 8:00 hrs. La regulación por retroalimentación negativa es el principal mecanismo que opera para conservar las concentraciones circulantes de glucocorticoides dentro de los límites apropiados. Los estímulos que generan estrés pueden anular esos mecanismos normales de control por retroalimentación negativa, lo cual da pie a incrementos notorios de las concentraciones plasmáticas de esteroides adrenales. Tanto los efectos benéficos como los nocivos, causados por el estrés, son involucrados en la acción de los corticosteroides, producidos en las glándulas adrenales. Esta secreción es controlada por la ACTH, la cual es secretada en la hipófisis hacia el torrente sanguíneo (Hardman y cols, 1997; Chrousos, 1995).

**Tabla 4. Hormonas secretadas por las principales glándulas del cuerpo humano**

<b>Glandula</b>	<b>Hormona</b>	<b>Acción</b>
HIPOFISIS Neurohipófisis (Lóbulo posterior)	Vasopresina Oxitocina	Regula concentración de iones en la sangre Promueve la contracción del útero durante el parto
Adenohipófisis (Lóbulo anterior)	TRH GnRH SRH ACTH Prolactina	Estimula la secreción de tiotropina Estimula la secreción de las hormonas FSH y LH Estimula la liberación de somatotropina Estimula la liberación de glucocorticoides Estimula la producción de leche en las glándulas mamarias
Corteza adrenal	Glucocorticoides (cortisol, corticosterona)  Mineralocorticoides (aldosterona)  Esteroides sexuales	Convierte las reservas de grasas y proteínas a carbohidratos, tiene funciones anti-inflamatorias, anti-alérgicas y anti-inmune  Aumenta la retención de sodio y la pérdida de potasio en el hígado  Estrógenos, andrógenos y progesterona
Médula adrenal	Adrenalina Noradrenalina	Incrementa frecuencia cardíaca, y el consumo de oxígeno Incrementa la presión de la sangre, interviene en la vasoconstricción y vasodilatación
Ovarios	Progesterona  Estrógenos  Relaxina	Mantiene el embarazo, facilita el desarrollo  Mantiene las características sexuales femeninas  Dilata el cuello del útero en el parto

Datos tomados de Adler, 1981; Guyton, 1996; Brown, 1999.

## **CAPÍTULO IV: HORMONAS GONADALES Y DEPRESIÓN**

### **4.1. Síndrome premenstrual (SPM) y desorden disfórico premenstrual (DDPM)**

En la actualidad, se ha reconocido el impacto que tienen los esteroides gonadales sobre la función del Sistema Nervioso Central y se le ha dado mayor atención a la posible relación entre el ciclo menstrual y la presencia de trastornos afectivos tales como la depresión (Rubinow y Schmidt, 1999). De hecho, algunos estudios sugieren que los cambios en la concentración de progesterona y estrógenos, que ocurren durante el ciclo menstrual, no sólo pueden modular la conducta, sino que pueden contribuir a la aparición de desórdenes afectivos (Rubinow y Schmidt, 1999).

Recientemente se integró al Manual estadístico y diagnóstico de enfermedades mentales (DSM-IV-TR) el desorden del estado de ánimo ligado al ciclo menstrual o síndrome premenstrual (SPM). Esta patología, se refiere a los desórdenes del estado de ánimo cíclicos con síntomas tales como irritabilidad, depresión y ansiedad moderada, acompañados de síntomas físicos como dolor de cabeza, cambios en el apetito, fatiga y tensión muscular que pueden interferir con las funciones diarias del individuo. Estos síntomas se presentan solamente durante la fase lútea del ciclo menstrual y desaparecen poco después de que inicia la menstruación (Rubinow y Roca, 2004). Como una forma más severa de esta alteración, se describe al desorden disfórico premenstrual (DDPM) ya que se considera que la sintomatología de éste es más grave y más incapacitante (Rubinow y Schmidt, 1999).

Algunos de los síntomas que se consideran para el DDPM de acuerdo al DSM-IV-TR son los siguientes: estado de ánimo deprimido, sentimientos de desesperanza, ansiedad, tensión, enojo o irritabilidad persistente y marcada, pensamientos de desprecio a sí mismo, dificultad para concentrarse, fatiga, cambios en el apetito, insomnio o hipersomnio, dolores de cabeza, dolor muscular, ganancia de peso, rigidez de las glándulas mamarias, por mencionar algunos. Para diagnosticar el DDPM se deben presentar al menos cinco de estos síntomas durante la última semana de la fase lútea y desaparecer a los pocos días de haberse presentado la menstruación por lo menos en cuatro ciclos consecutivos, estos síntomas interfieren con las actividades sociales, del trabajo, escuela y en general las relaciones interpersonales de la mujer (Ver Tabla 4).

La incidencia del DDPM no es clara, ya que de acuerdo a los criterios del DSM-IV-TR y los establecidos por instituciones de salud, se estima que alrededor del 5 % al 8% de la población femenina en el mundo lo padece (Eriksson y cols. 2001), sin embargo otros reportes señalan que cerca del 30% de la población femenina padecen este desorden (Rubinow y Roca, 2004).

En estudios clínicos, algunos investigadores mencionan que las conductas de irritabilidad, enojo, depresión y tensión son parte de los síntomas del DDPM que más reportan las pacientes (Ho y cols., 1999). Tales investigaciones han demostrado que los antidepressivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina pueden ayudar a muchas mujeres que sufren de DDPM y la Asociación de alimentos y drogas (FDA) ha aprobado hasta ahora dos de esos medicamentos para su uso en el tratamiento de DDPM: la sertralina (Zoloft) y la fluoxetina (Prozac) (Hendrick , 2002).

**Tabla 5. Síntomas presentes en el SPM y en el DDPM.**

	<b>Síndrome premenstrual</b>	<b>Desorden disfórico premenstrual</b>
Síntomas físicos	Predominantes como dolor de cabeza, cambios en el apetito, fatiga, tensión muscular entre otros.	Sobresalientes, como dolor de cabeza, tensión muscular, ganancia de peso, fatiga entre otros.
Síntomas afectivos	Menos severos como ansiedad, depresión e irritabilidad moderadas.	Severos y predominantes como estado de ánimo deprimido, sentimientos de desesperanza, ansiedad e irritabilidad persistentes.
Prevalencia	20 – 80 %	3-6 % ó 30 %

Datos tomados del DSM-IV.

## 4.2. Progesterona, estrógenos, andrógenos y depresión

Existen diferentes hipótesis que han tratado de explicar el origen del SPM, algunas se enfocan en el rol de las hormonas ováricas (progesterona y estrógenos), otras en la participación de los andrógenos y su relación con algunos sistemas de neurotransmisión. La estrategia de medir el contenido de hormonas gonadales en sangre, por ejemplo, es un intento por distinguir la etiología del SPM ya que se ha asociado con posibles anormalidades endocrinas (Steiner y cols, 2003).

La primera hipótesis menciona que los andrógenos participan en la conducta sexual y también han sido propuestos como posibles agentes moduladores del estado de ánimo.

Se han realizado diversos estudios tanto en animales como en humanos que señalan que los andrógenos intervienen en la sintomatología del DDPM, ya que un estudio realizado con mujeres con DDPM se descubre una correlación positiva entre la alta concentración de andrógenos y la aparición de irritabilidad; estas mujeres presentan niveles elevados de testosterona en sangre, durante la fase lútea tardía del ciclo menstrual en comparación con grupos de mujeres en la fase folicular y durante la ovulación (Eriksson y cols, 1992; Dunn y cols, 2001; Ho, 2001).

Además, los efectos conductuales de los andrógenos pueden ser mediados por una reducción en la actividad serotoninérgica, porque en un estudio realizado en mujeres con SPM con una alta concentración de testosterona en sangre, la administración de un antidepresivo inhibidor de la recaptura de serotonina reduce la irritabilidad y depresión (Rowe y cols, 1986; Bornet y cols, 1991; Eriksson y cols, 2000; Steiner, 2003).

Por otra parte, la hipótesis de la participación de la progesterona y los progestágenos sugiere que estos esteroides pueden abatir los síntomas del SPM (Hammarback y cols, 1985) a través del metabolito  $3\alpha$ ,  $5\alpha$  reducido de la progesterona, la alopregnanolona ( $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -THP), ya que éste produce efectos ansiolíticos (Rapkin y cols, 1997). En el modelo de la supresión de progesterona en roedores, que simula lo que sucede en la fase lútea tardía en mujeres, se encontró que la disminución de la  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -THP incrementa los niveles de ansiedad, uno de los síntomas del SPM (Schmidt y cols, 1998). Además, algunos estudios realizados en clínica muestran que en las mujeres con SPM presentan bajo contenido

plasmático de progesterona en comparación con el grupo control durante la fase lútea tardía.

Rapkin y cols, (1995) encuentran que mujeres con SPM tienen bajos niveles de  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -THP, estos resultados sugieren que tal vez la actividad de la enzima  $5\alpha$  reductasa, la encargada de sintetizar  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -THP podría estar reducida en mujeres con DDPM. En relación a estos hallazgos, un estudio realizado por Smith (2002) muestra que hay una disminución de los niveles de la  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -THP en el cerebro de rata, acompañado de un incremento en la expresión de la subunidad  $\alpha$ -4 del receptor  $GABA_A$ , ya que algunos estudios señalan que la presencia de la subunidad  $\alpha$ -4 parece ser importante para la ocurrencia de los efectos que tiene la supresión de la progesterona, tal como el incremento en los niveles de ansiedad.

Por su parte, los estrógenos junto con la progesterona, han sido propuestos como moduladores de la depresión en la mujer. En lo que se refiere a la participación de los estrógenos en el SPM no se ha descrito mucho, sin embargo, algunos estudios muestran que el tratamiento con estrógenos en mujeres con DDPM es eficaz. En este sentido, se ha visto que a mujeres a las que se les administró estrógenos por vía oral durante la fase folicular y la fase lútea, a dosis suficientes para suprimir la ovulación, mostraron un alivio de los síntomas fisiológicos del SPM en comparación con el grupo que recibió placebo (Cullberg 1972; Epperson, 1999). Este estudio sugiere que la supresión de la ovulación es un factor importante para que el tratamiento con estrógenos sea efectivo (Epperson, 1999). Otros fármacos que han sido usados para el tratamiento del SPM son los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina y el danazol que también suprimen la ovulación, sin embargo, el uso de estos tratamientos está asociado a diversos efectos secundarios como hiperplasia del endometrio y por lo tanto su uso es limitado. Asociado a esto, la administración de progesterona en conjunto con los estrógenos, revierte los efectos secundarios antes mencionados.

También se ha relacionado una posible participación de los neurotransmisores en la fisiopatología del SPM, esto es sugerido a partir de varios estudios que se han enfocado sobre todo a la 5-HT y mencionan que está involucrada en los síntomas del SPM (Rapkin, 1992; Steiner et al, 1997).

El sistema serotoninérgico se encuentra muy relacionado con las hormonas ováricas ya que se ha estudiado que en el hipotálamo los estrógenos inducen una fluctuación y un aumento en el contenido de 5-HT.

Estudios en clínica señalan que la concentración de 5-HT se incrementa en mujeres menopáusicas que recibieron terapia de restitución hormonal con estrógenos (Blum, 1996).

Recientemente algunos estudios concluyen que la función de 5-HT puede estar alterada en las mujeres que padecen SPM ya que la disminución del contenido de 5-HT puede estar asociado con la aparición de síntomas del SPM como la irritabilidad y la depresión (Menkes et al, 1994). Además por otro lado existe la evidencia de que los tratamientos con antidepresivos ISRS son efectivos al tratar el SPM, ya que producen reducción de síntomas como irritabilidad, tensión y depresión (Steiner y Born, 2000).

Estudios en clínica han demostrado los ISRS son los más favorables al tratar la depresión y el SPM; en un estudio de mujeres con SPM respondieron mejor al tomar sertralina (60%) que imipramina (40%) (Epperson, 2000).

En un estudio pre-clínico realizado para evaluar la conducta de agresión en ratas hembras ovariectomizadas comparadas con hembras intactas, se encontró que las conductas de agresión que presentan las ratas hembras son claramente ciclo-dependientes, ya que en las fases no receptivas (metaestro, diestro) se ve más marcada la agresión que en las fases receptivas (proestro, estro) y que la agresión se ve reducida por la ovariectomía (Ho y cols, 1999).

Estos hallazgos apoyan la propuesta de que los esteroides gonadales pueden ser importantes agentes farmacológicos en el tratamiento de la depresión en mujeres que presentan SPM o su forma más severa, el DDPM, además de que existe una estrecha relación entre estas hormonas con los sistemas de neurotransmisión ya que se ha demostrado que participan en la modulación de trastornos afectivos, como la ansiedad y la depresión.

### 4.3. Neuroesteroides como posibles moduladores del estado de ánimo

Los neuroesteroides, participan manteniendo el nivel de activación cerebral, en procesos de memoria y aprendizaje y modulando la conducta de agresión, además son importantes reguladores en algunos procesos del sistema nervioso central como los que se relacionan con el estrés y las reacciones al miedo; también se les ha asociado con los cambios en el estado de ánimo que ocurren en el ciclo menstrual, en la depresión post-parto y con la epilepsia (Cztonkowska y cols, 2003; Dubrovsky, 2005).

Uno de los neuroesteroides que ha sido más estudiados es la  $3\alpha, 5\alpha$ -THP. La acción de la  $3\alpha, 5\alpha$ -THP ha sido establecida como un componente que modula la acción del receptor del ácido gama amino butírico tipo A ( $GABA_A$ ), el principal receptor que modula la transmisión inhibitoria en el cerebro; así que por esta razón actúa de manera similar que los fármacos sedantes, tales como las benzodiazepinas y los barbitúricos (Smith, 2002; Bitran y cols, 1993; Picazo y Fernández-Guasti, 1995; Patchev, 1997; Guidotti y Costa, 1998).

Estudios en clínica demuestran que pacientes con desorden de pánico presentan bajas concentraciones de  $3\alpha, 5\alpha$ -THP, hallazgo que es compatible con una menor función GABAérgica (Ströhle, 2003). Además, los pacientes con depresión presentan concentraciones muy bajas del metabolito de la progesterona, la  $3\alpha, 5\alpha$ -THP en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y estas concentraciones se relacionan con alteraciones cognitivas y del sueño, que acompañan a la depresión (Uzunova y cols, 1998). Por otra parte, estudios en clínica muestran que mujeres con SPM presentan bajas concentraciones de alopregnanolona en sangre, y los niveles elevados de este metabolito correlacionan positivamente con la mejoría de los síntomas que reportaron las pacientes (Rapkin y cols, 1997; Bicikova y cols, 1998); esto sugiere que las bajas concentraciones de alopregnanolona pueden ser responsables de algunos síntomas conductuales del SPM, tales como ansiedad, alteraciones del estado de ánimo y del sueño (Rapkin y cols, 1997).

Además algunos estudios muestran que los neuroesteroides, como algunos metabolitos de la progesterona, están implicados en la acción rápida de los antidepresivos ISRS (Pearlstein, 2002).

**Tabla 6. Principales neuroesteroides y los tipos de modulación que ejercen en diferentes receptores.**

Esteroides	Receptor	Tipo de modulación
Alopregnanolona (3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -THP)	GABA <sub>A</sub>	Positiva
	5-HT <sub>3</sub>	Negativa
11-deoxicorticosterona	GABA <sub>A</sub>	Positiva
Progesterona	Kainato	Positiva
	5-HT <sub>3</sub>	Negativa
17- $\alpha$ estradiol	5-HT <sub>3</sub>	Negativa
17- $\beta$ estradiol	NMDA	Negativa
	Kainato	Positiva
	5-HT <sub>3</sub>	Negativa
Dehidroepiandrosterona	NMDA	Positiva

Tomado de Dubrovsky, 2005.

# CAPÍTULO V: MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE LA DEPRESIÓN

## 5.1. Modelos animales

Los modelos animales para el estudio de la depresión son una herramienta básica para examinar las propiedades antidepressivas de nuevos fármacos, para evaluar también el mecanismo de acción de los antidepressivos, así como para estudiar los componentes neurofisiológicos que subyacen a la depresión, por tanto, numerosos modelos animales han sido desarrollados para igualar las características que presentan los pacientes con depresión (Porsolt, 1992; Yadid, 2000).

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 (Yadid, 2000). Los modelos animales en psicofarmacología se basan en cambios conductuales inducidos a través de manipulaciones del ambiente interno y externo, asumiendo que las manipulaciones en éste son análogas a aquéllas que inducen la patología en el humano (Porsolt, 1992). En los modelos animales de depresión, los roedores o primates no humanos son sometidos a eventos estresantes, químicos o quirúrgicos con el propósito de inducir respuestas bioquímicas o conductuales semejantes a algunos síntomas observados en individuos deprimidos (Porsolt et al, 1992).

En la evaluación de un modelo animal es importante considerar el objetivo para el cual fue diseñado, ya que esto determina los criterios que debe cumplir para ser válido, Willner (1994) propone tres criterios de validez que permiten evaluar a los modelos animales y 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, (Willner, 1994).

## **5.2. Modelo de nado forzado**

El FST es un modelo animal que sirve para el estudio de la depresión, fue propuesto por Porsolt y cols en el año de 1977, actualmente se utiliza como modelo para evaluar las propiedades antidepresivas de los fármacos. Este modelo cumple con el criterio de validez predictiva ya que el efecto que producen los fármacos antidepresivos en humanos es el mismo al probarlo con roedores en el FST, también con el criterio de validez de constructo hipotético ya que se basa en la respuesta del animal ante el estímulo estresante (Borsini et al, 1988).

El FST se lleva a cabo en dos sesiones, realizadas en un intervalo de 24 horas, la primera sesión (pre-prueba) se realiza en 15 minutos y en ella se coloca al animal en un estanque cilíndrico de vidrio (46 cm de altura X 20 cm de diámetro) con 30 cm de agua a 25°C en promedio, en esta sesión, el animal es sometido a un espacio limitado en el que no puede tocar el fondo del estanque ni escapar del mismo, después de unos minutos de verse forzado a nadar reduce sus movimientos hasta que realiza solamente aquellos que le permiten mantener la cabeza fuera del agua para poder respirar, a esta reducción de movimientos se le denomina conducta de inmovilidad y se considera un estado de desesperanza conductual que es análogo al estado de abandono que presenta un individuo deprimido (Porsolt et al, 1977; Willner et al, 1994). Asimismo, el animal emite otras conductas como la conducta de nado (movimientos suaves que le permiten al animal desplazarse alrededor del estanque) y la conducta de escalamiento (movimientos vigorosos dirigidos hacia las paredes del estanque), que se denominan conductas activas (Detke y cols 1997). Se considera que las conductas activas indican motivación ya que son intentos que realiza el animal para salir de la situación estresante en la que se encuentra. Veinticuatro horas después se lleva a cabo la sesión de prueba la cual tiene una duración de 5 minutos y es vídeo grabada, en ella se evalúa el efecto de los antidepresivos los cuales disminuyen la conducta de inmovilidad (Porsolt et al, 1977, 1978; Borsini et al, 1988).

Durante la prueba se evalúan tres conductas: inmovilidad, nado y escalamiento siguiendo la propuesta de Detke y cols (1995,1997), la cual nos dice que los fármacos antidepressivos disminuyen la conducta de inmovilidad y que al mismo tiempo incrementan alguna de las conductas activas ya sea el nado o el escalamiento, y se propone que al analizar el aumento de algunas de las conductas activas a expensas de una disminución de la inmovilidad es posible conocer el sistema de neurotransmisión que participa en el efecto antidepressivo del fármaco evaluado. Así, una disminución de la inmovilidad a expensas de un aumento en la conducta de nado es resultado del efecto antidepressivo de un fármaco cuyo mecanismo de acción esta mediado por el sistema serotoninérgico, como actúan los ISRS, tal como la fluoxetina; y una disminución de la inmovilidad a expensas de un aumento en el escalamiento nos habla de un mecanismo de acción mediado por el sistema noradrenérgico, como lo hacen los inhibidores de la recaptura de noradrenalina, tal como la desipramina (Lucki, 1997).

Se han utilizado diversos modelos animales para evaluar la posible participación de las hormonas gonadales en la modulación de los trastornos afectivos, tales como la ansiedad y la depresión; respecto al estudio de la depresión experimental algunos trabajos han reportado que no existen diferencias en la duración de los periodos de inmovilidad en el FST en ratas hembras durante diferentes etapas del ciclo estral (Alonso et al., 1991). Sin embargo se ha reportado en otros estudios, que la inmovilidad observada en el FST es mayor en hembras en la fase de diestro en comparación con las hembras en la fase de estro y que la pre-exposición a choques eléctricos promueve un aumento en la inmovilidad en las hembras en diestro, pero no en hembras que se encontraban en la fase de estro (Marván y cols., 1996; 1997). Asimismo, se ha encontrado que las hembras en las fases de proestro y estro presentan una disminución en la conducta de inmovilidad comparadas con las hembras en las fases de metaestro y diestro en el FST (Contreras y cols., 1998).

Además la administración de progesterona, al igual que de estrógenos, a animales ovariectomizados reduce la conducta de inmovilidad en el FST (Martínez-Mota y cols., 1999; Estrada-Camarena y cols., 2003).

### 5.3. Cepa Wistar-Kyoto (WKY)

La cepa de ratas Wistar-Kyoto (WKY) ha sido propuesta como un modelo animal de depresión por presentar características similares a algunos síntomas que reportan pacientes con depresión (ver tabla 6). Esta cepa fue desarrollada a partir de la Wistar, fue manipulada genéticamente e inicialmente se consideró como la cepa control normotensa de las ratas espontáneamente-hipertensas (SHR) (Okamoto y Aoki, 1963). De hecho, se considera que las ratas de la cepa WKY son hiperreactivas al estrés, esto quiere decir que muestran respuestas conductuales y fisiológicas exageradas ante estímulos estresantes en comparación con otras cepas de ratas, como las Wistar, Brown-Norway, Fischer 344, Lewis, y las SHR (Lahmame et al, 1997).

**Tabla 7. Características similares entre la depresión clínica, la cepa Wistar y la cepa WKY.**

<b>Síntoma característica</b>	<b>Depresión clínica</b>	<b>Cepa Wistar</b>	<b>Cepa WKY</b>
Niveles de desesperanza (en el modelo de FST)	Altos	Altos, sólo los presentan si son estresadas previamente	Altos
Actividad locomotriz	Baja	Baja, sólo la presentan si son estresadas previamente	Baja
Alteraciones en el sueño MOR	Presentes	Sólo las presentan si son estresadas previamente	Presentes
Alteraciones en la alimentación	Presentes	Sólo las presentan si son estresadas previamente	Presentes

Datos tomados de Paré, 1992,1993,1994; Lahmame, 1997; López-Rubalcava,2000; Rittenhouse, 2002.

Las ratas WKY secretan una alta concentración de la hormona adrenocorticotrópica así como del factor de liberación de la hormona corticotropina (CRH) (López-Rubalcava y Lucki, 2000) en respuesta a estímulos estresantes (Paré y Redei, 1993), y son más susceptibles a desarrollar ulceración gástrica como respuesta al estrés en comparación con otras cepas de ratas (Paré, 1990; 1994). Diversos estudios sugieren que las ratas WKY no sólo presentan hiperrespuestas ante el estrés, sino que también presentan otros síntomas relacionados con la depresión, tales como retardo psicomotor (Paré, 1994) y disminución del interés por actividades retribuyentes (Paré, 1994).

Varios grupos de investigación han encontrado en las ratas macho WKY conductas similares a síntomas de depresión en un amplio rango de pruebas conductuales. Estas ratas muestran altos valores de inmovilidad en el FST, considerando a la inmovilidad como una medida relacionada a la depresión (Rittenhouse et al, 2002; Paré, 1992; 1994). En otros modelos conductuales utilizados para medir ansiedad y reactividad al estrés, las ratas WKY macho muestran una actividad alta, por ejemplo en el modelo de campo abierto y en la prueba de enterramiento defensivo (Paré, 1994).

En un estudio realizado por Paré y cols (1993), se demostró que las ratas WKY (tanto machos y hembras) fueron más vulnerables a desarrollar úlceras gástricas en comparación con las ratas Wistar y las Fischer-344, la mayor vulnerabilidad para las hembras WKY fue cuando se encontraban en las fases de proestro/estro en comparación con hembras en diestro y con los machos; además, se encontró que las ratas hembras WKY en la fase de proestro/estro son más activas en el OFT y más pasivas en el FST comparadas con hembras WKY en fase de diestro y los machos WKY. Por lo tanto, las hembras WKY en fase de proestro/estro desarrollan más úlceras, son más reactivas al estrés y presentan índices mayores de desesperanza conductual (inmovilidad); estos resultados sugieren que durante la fase de proestro-estro las ratas WKY son más reactivas a la estimulación por estrés agudo en comparación con hembras en fase de diestro y con los machos. Además algunos estudios sugieren que las ratas macho WKY muestran una respuesta reducida a los antidepresivos tricíclicos, comparadas con las cepas Brown-Norway, Lewis, Fischer 344 y las ratas Sprague Dawley (Lahmame et al, 1997); mientras que otros reportan diferencias al comparar la respuesta a los tratamientos tricíclicos con la cepa Wistar (López-Rubalcava y Lucki, 2000). En relación a los ISRS, existen estudios que muestran que los machos de la

cepa WKY son resistentes al tratamiento con fluoxetina en el FST y en el laberinto de brazos elevados (Griebel y cols, 1999). Además el citalopram, no tiene efecto en las ratas WKY (Pollier y cols, 2000) y posiblemente esa falta de efecto involucre mecanismos independientes al sistema serotoninérgico presentes en esta cepa.

## **CAPÍTULO VI:**

### **6.1. Planteamiento del problema:**

En las últimas décadas ha aumentado el porcentaje de personas que padecen depresión, de las cuales la mayor parte son mujeres ya que presentan mayor vulnerabilidad a padecer algún trastorno afectivo en etapas específicas a lo largo de su vida, como en la fase lútea tardía del ciclo menstrual; en la cual se presenta el SPM y el DDPM.

Las ratas de la cepa WKY han sido propuestas como un modelo animal de depresión y los estudios experimentales de depresión que se han hecho con esta cepa, en su mayoría han sido realizados en individuos del sexo masculino. De hecho, existen pocos trabajos realizados con hembras WKY en los que se muestra que las oscilaciones de hormonas gonadales a lo largo del ciclo estral afecta los niveles de desesperanza conductual; sin embargo hasta el momento no se ha evaluado la acción de los antidepresivos bajo diferentes condiciones hormonales.

Considerando que las variaciones en los niveles de hormonas modifican las acciones de fármacos psicotrópicos, es importante realizar trabajos que consideren las variaciones endocrinas y conductuales que presentan las hembras WKY, usadas como un modelo animal de depresión, en diferentes condiciones endocrinas.

### **6.2. Hipótesis:**

Los niveles de desesperanza conductual, así como en la respuesta a fármacos antidepresivos, se modifica dependiendo de la condición endocrina en ratas de las cepas Wistar y Wistar-Kyoto.

### **6.3. Objetivo general:**

Comparar en un modelo experimental de depresión los niveles de desesperanza conductual y la respuesta a los fármacos antidepresivos, en dos cepas de ratas bajo diferentes condiciones endocrinas.

### **6.4. Objetivos particulares:**

**Objetivo particular 1:** Obtener los valores basales de desesperanza conductual en ratas Wistar y WKY ovariectomizadas y a lo largo del ciclo estral, utilizando el FST.

**Objetivo particular 2:** Medir la respuesta a fármacos antidepresivos en ratas Wistar y WKY ovariectomizadas utilizando el FST.

**Objetivo particular 3:** Medir la respuesta a fármacos antidepresivos en ratas Wistar y WKY a lo largo del ciclo estral utilizando el FST.

## **CAPÍTULO VII: MATERIAL Y MÉTODOS**

### **7.1. Procedimiento**

#### **7.1.1. Manejo de animales**

Se utilizaron ratas hembras intactas y ratas ovariectomizadas de la cepa Wistar y de la cepa Wistar-Kyoto de 250-300g, bajo condiciones de temperatura y humedad controladas, alojadas en grupos de 5 por caja. Los animales fueron mantenidos en un bioterio de estancia con ciclo invertido de luz/oscuridad 12h/12h (encendido de luz a las 10 p.m); con libre acceso a comida y agua.

El protocolo del presente trabajo fue revisado y aceptado por la Comisión de Ética del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”.

#### **7.1.2. Cirugía:**

Las ratas hembra fueron anestesiadas con tribromoetanol (200mg/kg, 1ml/100g, i.p) antes de realizarles una ovariectomía bilateral. Ésta consistió en hacer una incisión longitudinal sobre la piel y el músculo del animal hasta exponer los oviductos y los ovarios, ya localizados se ligaron los oviductos, se extirparon los ovarios y se suturaron el músculo y la piel del animal. Esta cirugía se realizó con la finalidad de eliminar la principal fuente de secreción de hormonas ováricas.

Los animales fueron mantenidos en un bioterio durante tres semanas antes de ser manipulados para los experimentos.

#### **7.1.3. Determinación del ciclo estral:**

A las hembras intactas se les tomaron frotis vaginales diariamente (10:00 a.m) que fueron observados en fresco al microscopio para identificar la fase del ciclo estral de cada rata. Sólo los animales que presentaron al menos tres ciclos estrales regulares (4-5 días aproximadamente por ciclo) se incluyeron en los experimentos.

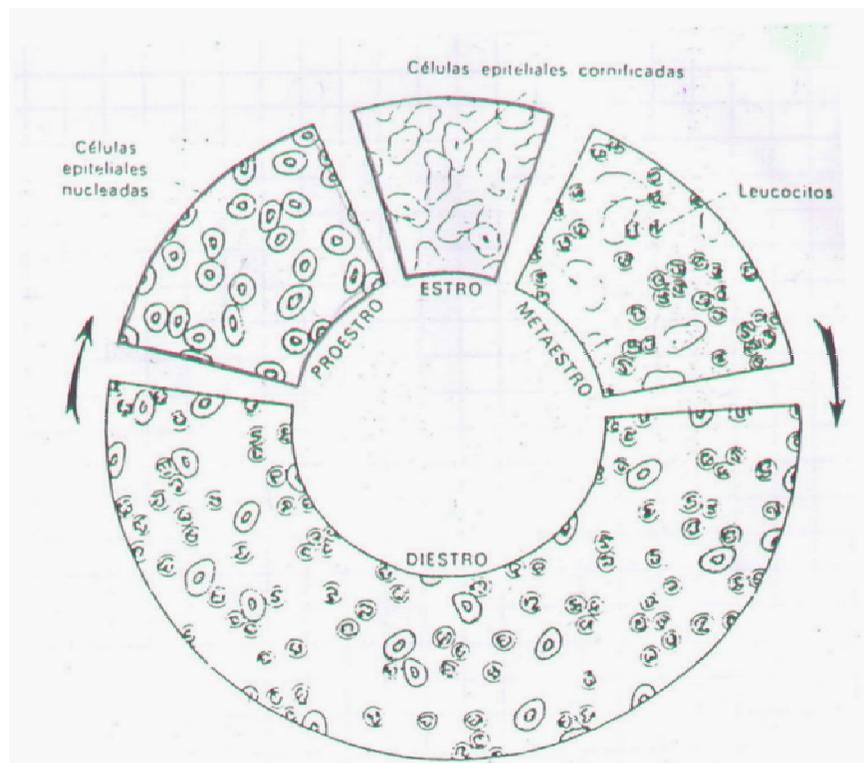
Las fases del ciclo estral se determinaron, de acuerdo al criterio de Gorbman (1993), por medio de la citología vaginal y se identificaron cuatro fases:

-*Proestro*: en esta fase se presentan en su mayoría células epiteliales nucleadas.

-*Estro*: en esta fase la mayor parte de las células presentes son epiteliales cornificadas.

-*Metaestro*: en esta fase se presentan células epiteliales cornificadas algunas nucleadas y muchos leucocitos.

-*Diestro*: en esta fase predominan los leucocitos.



**Fig. 6. Ciclo estral de la rata**

## **7.2. Pruebas conductuales:**

### **7.2.1. Modelo de FST**

El FST es un modelo animal para el estudio de la depresión y también es utilizado para evaluar las propiedades antidepresivas de los fármacos (Porsolt et al. 1977). Esta prueba conductual consta de dos sesiones realizadas en un intervalo de 24 horas; en la primera sesión, (con una duración de 15 minutos) o sesión de pre-prueba se coloca al

roedor en un estanque de 46 cm de altura x 20 cm de diámetro, con 30 cm del nivel del agua a 25°C aproximadamente; en esta sesión se induce la desesperanza conductual.

Después de la pre-prueba se administran los fármacos en los tiempos de 23, 5 y 1 hr. antes de la prueba. Veinticuatro horas después de la pre-prueba se realiza la sesión de prueba en la que se coloca al roedor en el estanque con agua y permanece en él durante 5 minutos, en esta sesión se evalúa el efecto del tratamiento. Esta sesión es video grabada y posteriormente, el video es revisado por un observador que desconoce el tratamiento de los animales. Así, en intervalos de 5 segundos el observador determina la conducta que el animal realiza:

-inmovilidad: cuando el animal sólo realiza aquellos movimientos que le permiten mantener la cabeza fuera del nivel del agua.

-nado: desplazamientos suaves que el animal realiza alrededor del estanque cilíndrico e incluso puede bucear.

-escalamiento: movimientos vigorosos que el animal realiza con sus extremidades anteriores y son dirigidos hacia las paredes del estanque.



**Modelo de nado forzado (FST)**

### **7.2.2. Prueba de actividad ambulatoria:**

Para descartar una posible influencia de los tratamientos sobre la actividad ambulatoria, que produzca un falso positivo en el FST, se evaluó el efecto de los fármacos antidepresivos serotoninérgicos y noradrenérgicos en la prueba de actividad ambulatoria. Ésta

consiste en colocar al animal durante 5 minutos en una caja opaca de acrílico (40 x 30 x 20 cm ) que tiene el piso dividido en 12 cuadros iguales (11 x 11 cm); los animales se colocan en una de las esquinas de la caja y se registra el número de cuadros que recorren durante la sesión de 5 minutos (Martínez-Mota y cols, 1999; Estrada-Camarena y cols, 2002).

### **7.3. Fármacos utilizados**

Los fármacos utilizados fueron un inhibidor de la recaptura de noradrenalina, desipramina (DMI, Sigma-Aldrich) y un inhibidor de la recaptura de serotonina, clomipramina (CMI, Sigma-Aldrich) que fueron preparados y disueltos en solución salina (NaCl) al 0.9%. Los antidepresivos son administrados entre la pre-prueba y la prueba de nado forzado ( 23., 5 y 1 hora antes de la prueba) por vía subcutánea en un volumen de 0.2 ml / 100g. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica y fueron manipulados igual que los grupos experimentales.

## **CAPÍTULO VIII: DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **8.1. Experimento 1: “Diferencia en los niveles de desesperanza conductual entre ratas Wistar y WKY”.**

Para este experimento los animales fueron divididos en intactos (n=8) y ovx (n=8). Los animales intactos fueron registrados durante la fase de diestro con el fin de obtener los valores de desesperanza conductual en las dos cepas, en una fase caracterizada por presentar baja concentración de hormonas ováricas. Así al grupo de animales intactos se les tomaron frotis vaginales durante tres semanas como mínimo y sólo aquellas ratas que presentaron ciclos estrales regulares se incluyeron en el análisis estadístico. Las hembras fueron sometidas a la pre-prueba y prueba de nado, inyectando solución salina como vehículo entre las dos sesiones de nado.

### **8.2. Experimento 2: “Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepresiva de un ISRS”.**

Este experimento se realizó con el fin de determinar si la condición endocrina influía en la desesperanza conductual y en el efecto antidepresivo de la CMI, un ISRS. Se formaron dos grupos uno de ratas ovx y otro de ratas intactas. En el caso de las ratas intactas sólo se incluyeron las que presentaron al menos tres ciclo ciclos estrales regulares, así al catorceavo día de tomar los frotis, se realizó la pre-prueba y se inicio la administración de CMI a las dosis de 5 y 10 mg/kg ó solución salina por vía subcutánea. El día de la prueba (día 15) de determinó la fase de ciclo estral y se formaron cuatro grupos independientes de acuerdo a la fase en la que se encontraron los animales.

Así, se agruparon en las fases de diestro (n=8), proestro (n=8), estro (n=8) y metaestro (n=8).

Los animales posteriormente fueron sometidos a la prueba de actividad ambulatoria, seguida del FST. Los resultados fueron comparados contra un grupo de ratas ovariectomizadas, (n=8) inyectadas con la misma dosis, esto con el propósito de observar la

influencia de las hormonas gonadales en la desesperanza conductual, y la respuesta a los fármacos antidepresivos.

### **8.3. Experimento 3: “Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepresiva de un ISRNA”.**

Este experimento se realizó con el fin de determinar si la condición endocrina influía en la desesperanza conductual y en el efecto antidepresivo de la DMI, un ISRNA. Se formaron dos grupos uno de ratas ovx y otro de ratas intactas. En el caso de las ratas intactas sólo se incluyeron las que presentaron al menos tres ciclo ciclos estrales regulares, al catorceavo día de tomar los frotis, se realizó la pre-prueba y se inicio la administración de DMI a las dosis de 5 y 10 mg/kg ó solución salina por vía subcutánea. El día de la prueba (día 15) se determinó la fase de ciclo estral y se formaron cuatro grupos independientes de acuerdo a la fase en la que se encontraron los animales. Así se agruparon en las fases de diestro (n=8), proestro (n=8), estro (n=8) y metaestro (n=8) que posteriormente fueron sometidos a la prueba de actividad ambulatoria, seguida del FST.

Los resultados fueron comparados contra un grupo de ratas ovariectomizadas, (n=8) inyectadas con la misma dosis, esto con el propósito de observar la influencia de las hormonas gonadales en la desesperanza conductual, y la respuesta a los fármacos antidepresivos.

### **8.4. Análisis estadístico:**

En el experimento 1 los datos se analizaron a través de un ANOVA de 2 vías, considerando como factores la condición endocrina y cepa, seguido por una prueba post hoc de Tukey. Sólo valores de  $p < 0.05$  se consideraron significativos.

En el experimento 2 y 3 los datos fueron analizados a través de un ANOVA de 2 vías, considerando como factores la condición endocrina y la dosis administrada, seguido por una prueba post hoc de Tukey. Sólo valores de  $p < 0.05$  se consideraron significativos.

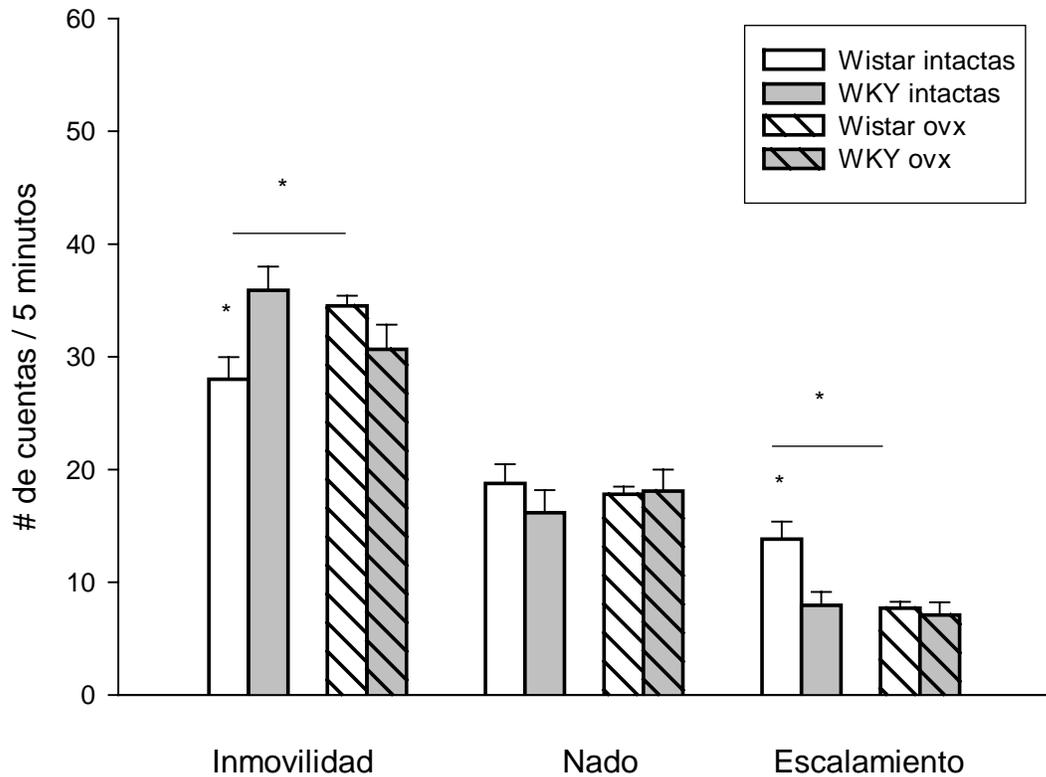
## CAPÍTULO IX: RESULTADOS

### **Experimento 1: “Diferencia en los niveles de desesperanza conductual entre ratas Wistar y WKY”.**

El ANOVA de 2 vías mostró que no existen diferencias significativas en la conducta de inmovilidad dependientes de la cepa, ni de la condición endocrina, pero si en la interacción cepa X condición ( $F:1,49= 7.724$ ,  $p=0.008$ ). Las ratas Wistar ovx mostraron incremento de la inmovilidad en comparación con el grupo de hembras Wistar intactas ( $p<0.05$ ) (Ver Figura 6). En las ratas WKY, la ovx produjo una tendencia a disminuir la conducta de inmovilidad que no alcanzó la significancia estadística.

En la conducta de nado no se observaron diferencias significativas entre las dos cepas ni en los animales intactos ni en los ovx. En la conducta de escalamiento se encontraron diferencias dependiendo de la cepa ( $F:1,49= 6.57$ ,  $p=0.013$ ), de la condición endocrina ( $F:1,49= 7.608$ ,  $p=0.008$ ) y en la interacción cepa X condición ( $F:1,49= 4.314$ ,  $p=0.043$ ) ya que se observó un aumento del escalamiento en las ratas Wistar intactas tratadas con solución salina en comparación con el grupo de ratas WKY intactas y con el grupo de ratas Wistar ovx ( $p<0.05$ ).

## Wistar vs WKY



**Figura 6.**-Diferencia en los niveles de desesperanza conductual entre ratas Wistar y WKY. Los datos representan la media + el error estándar de las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento registradas en el FST mostradas por las ratas Wistar y WKY en diferentes condiciones endocrinas. ANOVA de 2 vías. Prueba de Tukey, \*  $p < 0.05$ , gpo intactas vs ovx; ovx= ovariectomia.

## **Experimento 2: “Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepressiva de un ISRS”.**

En las ratas Wistar tratadas con CMI, el ANOVA de 2 vías mostró que existen diferencias significativas en la conducta de inmovilidad dependiendo de la condición endocrina ( $F:4,105 = 9.19$   $p<0.001$ ), sin que resultase significativo el factor dosis, pero sí la interacción condición X dosis ( $F:4,105 = 7.72$   $p<0.001$ ).

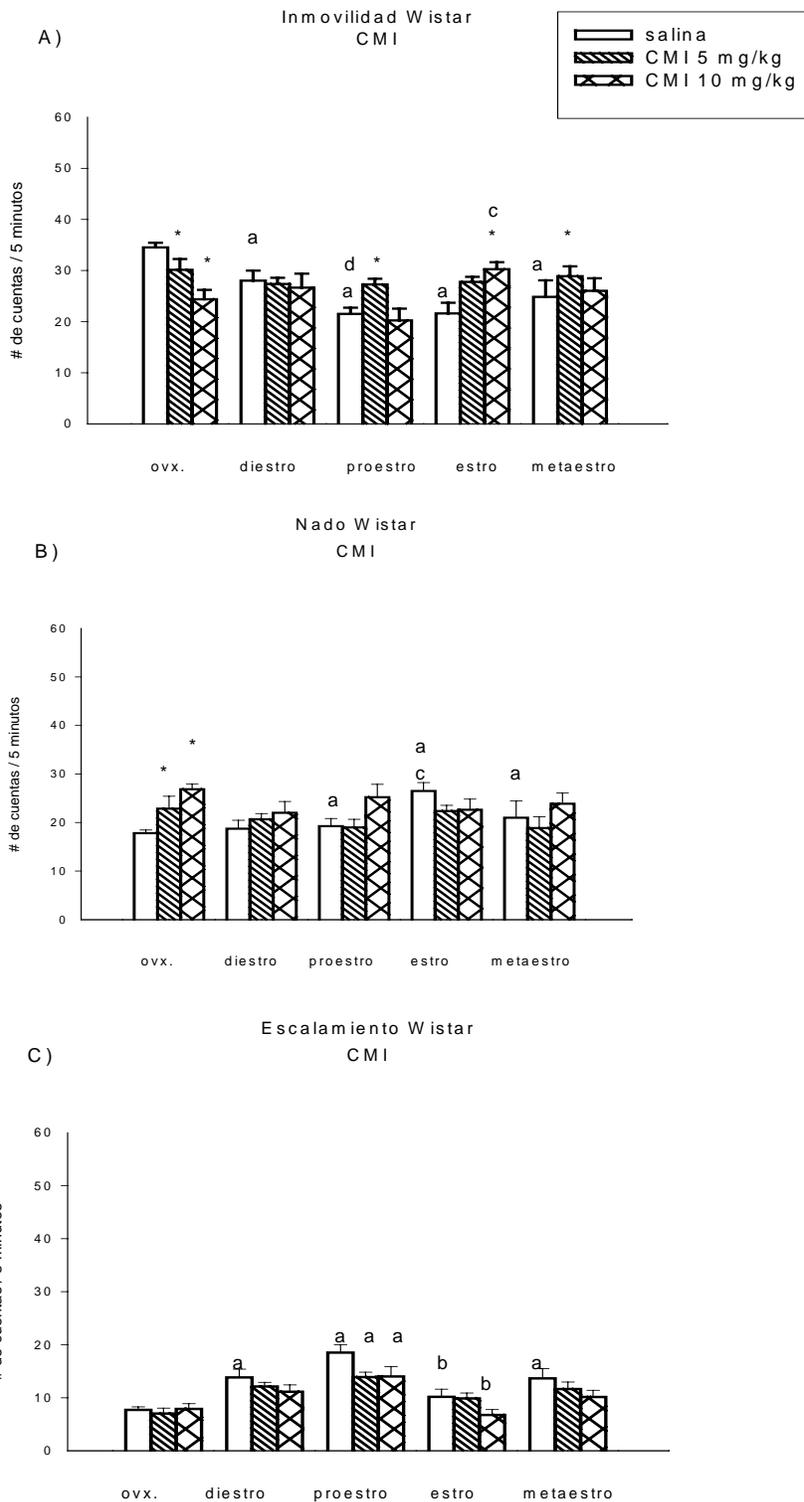
Las ratas Wistar tratadas con solución salina, mostraron diferencias dependiendo de la condición endocrina en la que se encontraban, ya que las ratas registradas durante las fases de proestro, estro, metaestro y diestro mostraron niveles bajos de inmovilidad al ser comparadas con las ratas ovx. ( $p<0.05$ ). Además, hubo una disminución de la inmovilidad en la fase de proestro con respecto al diestro ( $p<0.05$ ) (Ver Figura 7, panel A). Lo que respecta a los grupos tratados con CMI, se encontró que en las ratas ovx hubo una reducción de la inmovilidad en los grupos tratados con las dosis de 5 y 10 mg/kg ( $p<0.05$ ) en comparación con su grupo control. En presencia de los ovarios, las dosis de 5 y 10 mg/kg resultaron inefectivas para reducir la conducta de inmovilidad. De hecho se observó un aumento de la inmovilidad en el grupo tratado con la dosis de 10 mg/kg en la fase de estro respecto a su grupo control ( $p<0.05$ ) (Fig. 7 panel A).

En lo que se refiere a la conducta de nado, el ANOVA de 2 vías reveló que no existen diferencias significativas que dependan de la condición endocrina pero si existen diferencias dependiendo de la dosis administrada ( $F:4,105 = 3.95$   $p=0.022$ ) y en la interacción condición X dosis ( $F:4,105 = 4.72$   $p<0.001$ ); en los grupos intactos tratados con solución salina, se encontró un aumento en la conducta de nado en los animales registrados en las fases de proestro, estro y metaestro en comparación con el grupo de ratas ovx ( $p<0.05$ ). Así mismo, en la fase de estro las ratas mostraron un aumento del nado comparado con los animales que se encontraban en la fase de diestro ( $p<0.05$ ). Para los grupos tratados con las dosis de 5 y 10 mg/kg CMI, se observó en las ratas ovx un aumento del nado al ser comparadas con su grupo control ( $p<0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas en los animales tratados con las mismas dosis y que fueron registrados en diferentes fases del ciclo estral (Fig.7, panel B).

Por último en la conducta de escalamiento el análisis estadístico mostró diferencias significativas dependiendo de la condición endocrina ( $F:4,105 = 16.16$   $p < 0.001$ ), sin que fuera significativa la dosis administrada, así como la interacción condición X dosis. En los grupos tratados con solución salina, hubo un aumento en la conducta de escalamiento en las fases de proestro, metaestro y diestro comparadas con el grupo de ratas ovx ( $p < 0.05$ ).

Además, las ratas en la fase de estró mostraron una reducción del escalamiento en comparación con las ratas en la fase de proestro ( $p < 0.05$ ). En los grupos tratados con CMI a las dosis de 5 y 10 mg/kg, se observó un aumento de la conducta de escalamiento en la fase de proestro en comparación con las ratas ovx tratadas con la misma dosis ( $p < 0.05$ ).

También se observó una reducción significativa del escalamiento en el grupo de ratas en la fase de estró tratadas con CMI 10 mg/kg en comparación con el grupo de ratas en la fase de proestro tratadas con la misma dosis ( $p < 0.05$ ) (Fig. 7, panel C).

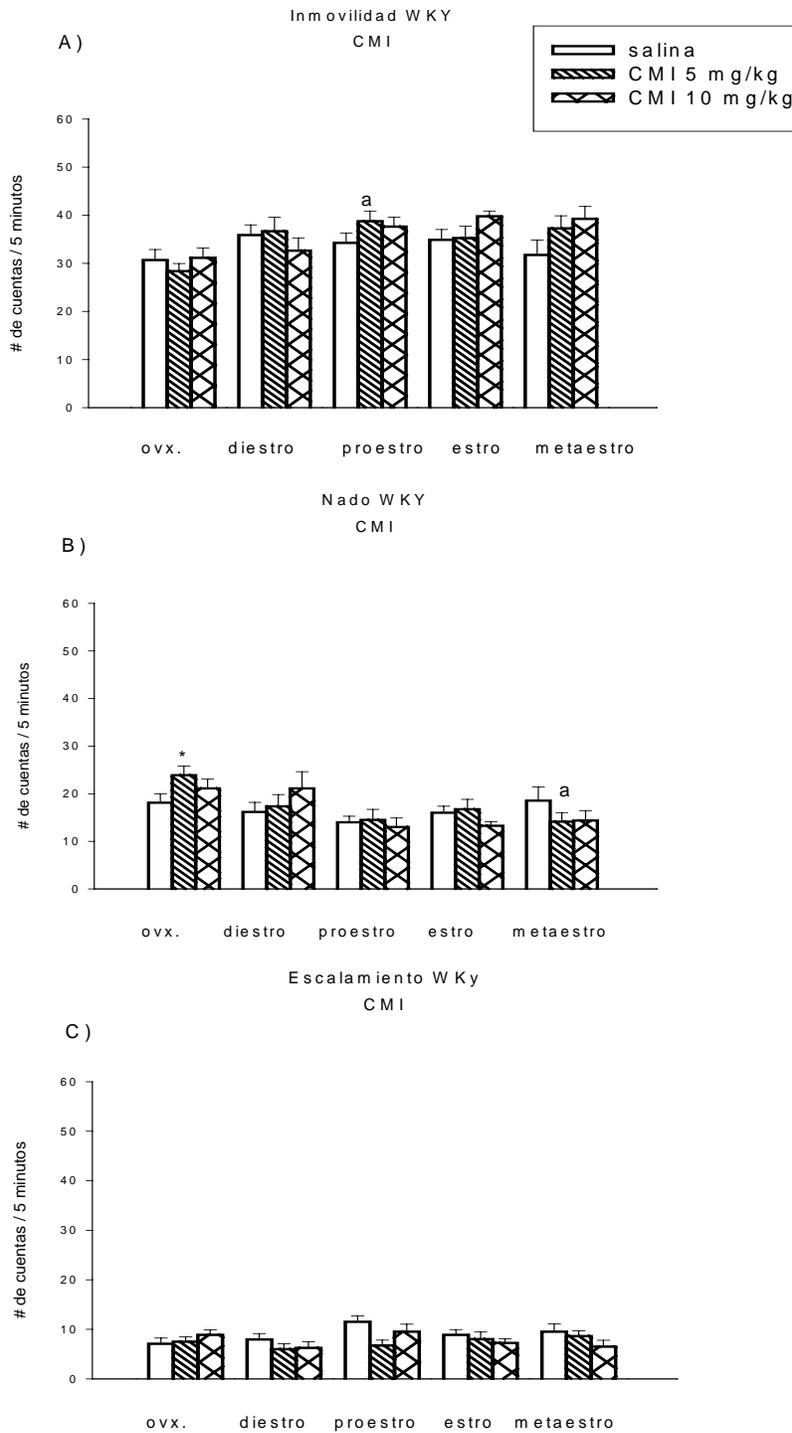


**Figura 7.-** Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepressiva de un ISRS. Los datos representan la media + el error estándar de las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento registradas en el FST mostradas por las ratas Wistar en diferentes condiciones endocrinas tratadas con sol. Salina ó CMI (5 y 10 mg/kg). Prueba de Tukey, \*=p<0.001 gpo control salina vs tratados, a = p<0.05 fase vs ovx, b= p<0.05 proestro vs estro, c= p<0.05 estro vs diestro, d= p<0.05 proestro vs diestro. Ovx= ovariectomía.

Para los grupos de ratas WKY tratadas con CMI, el ANOVA de 2 vías mostró que existen diferencias significativas en la conducta de inmovilidad que dependen de la condición endocrina de los animales ( $F:4,105=4.22$   $p=0.003$ ), sin que resultase significativo el efecto de la dosis administrada ó la interacción condición X dosis. Esa diferencia en la conducta de inmovilidad está dada por un aumento de la inmovilidad en el grupo tratado con CMI (5 mg/kg) en la fase de proestro comparado con el grupo de hembras ovx tratado con la misma dosis ( $p<0.05$ ). Sin embargo en los demás grupos no se encontraron diferencias significativas en los valores de inmovilidad. (Ver Figura 8, panel A).

Para la conducta de nado, las ratas WKY mostraron una diferencia significativa que dependió de la condición endocrina de los animales ( $F:4,105 =4.29$   $p=0.003$ ), sin que fuera significativo la dosis administrada ó la interacción condición X dosis; en las ratas ovx se encontraron diferencias ya que se observó un aumento en el nado con la dosis de 5 mg/kg comparado con su grupo control y con el grupo de ratas registradas en el metaestro ( $p<0.05$ ).

En lo que se refiere a la conducta de escalamiento el ANOVA de 2 vías no mostró diferencias significativas dependientes de la condición endocrina, de la dosis administrada o de la interacción condición X dosis (Fig. 8, panel C).



**Figura 8.-** Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepresiva de un ISRS. Los datos representan la media + el error estándar de las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento registradas en el FST mostradas por las ratas WKY en diferentes condiciones endocrinas tratadas con sol. Salina ó CMI (5 y 10 mg/kg). Prueba de Tukey, \*=p<0.001 gp control salina vs tratados, a = p<0.05 fase vs ovx. ovx= ovariectomía.

### **Experimento 3: “Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepressiva de un ISRNA”.**

En las ratas Wistar tratadas con DMI, el ANOVA de 2 vías mostró que no existen diferencias significativas en la conducta de inmovilidad que dependan de la condición endocrina, pero sí diferencias dependientes de la dosis administrada ( $F: 4,105 = 28.35$   $p < 0.001$ ) así como en la interacción condición X dosis ( $F: 4,105 = 10.53$   $p < 0.001$ ). Los grupos intactos tratados con solución salina mostraron menor conducta de inmovilidad en comparación con el grupo de ratas ovx ( $p < 0.05$ ). Además se observó una disminución de la inmovilidad en la fase de proestro comparada con la fase de diestro ( $p < 0.05$ ) (Ver Figura 9, panel A).

En las ratas ovx tratadas con DMI con las dosis de 5 y 10 mg/kg se observó una disminución de la inmovilidad respecto a su grupo control ( $p < 0.05$ ). En los animales intactos las dosis de 5 y 10 mg/kg resultaron inefectivas para reducir la conducta de inmovilidad en comparación a su grupo control y a los grupos de ratas ovx tratadas con la misma dosis. Por último, en el grupo tratado con DMI 10 mg/kg en la fase de diestro se observó una reducción de la inmovilidad con respecto a su grupo control ( $p < 0.05$ ). En las otras fases no se observó efecto mayor al que inducen las hormonas solas (Fig 9, panel A).

En lo que se refiere a la conducta de nado, las ratas Wistar mostraron diferencias significativas dependiendo de la condición endocrina ( $F: 4,105 = 21.14$   $p < 0.001$ ), de la dosis administrada ( $F: 4,105 = 7.85$   $p < 0.001$ ) y de la interacción condición X dosis ( $F: 4,105 = 2.45$   $p = 0.018$ ).

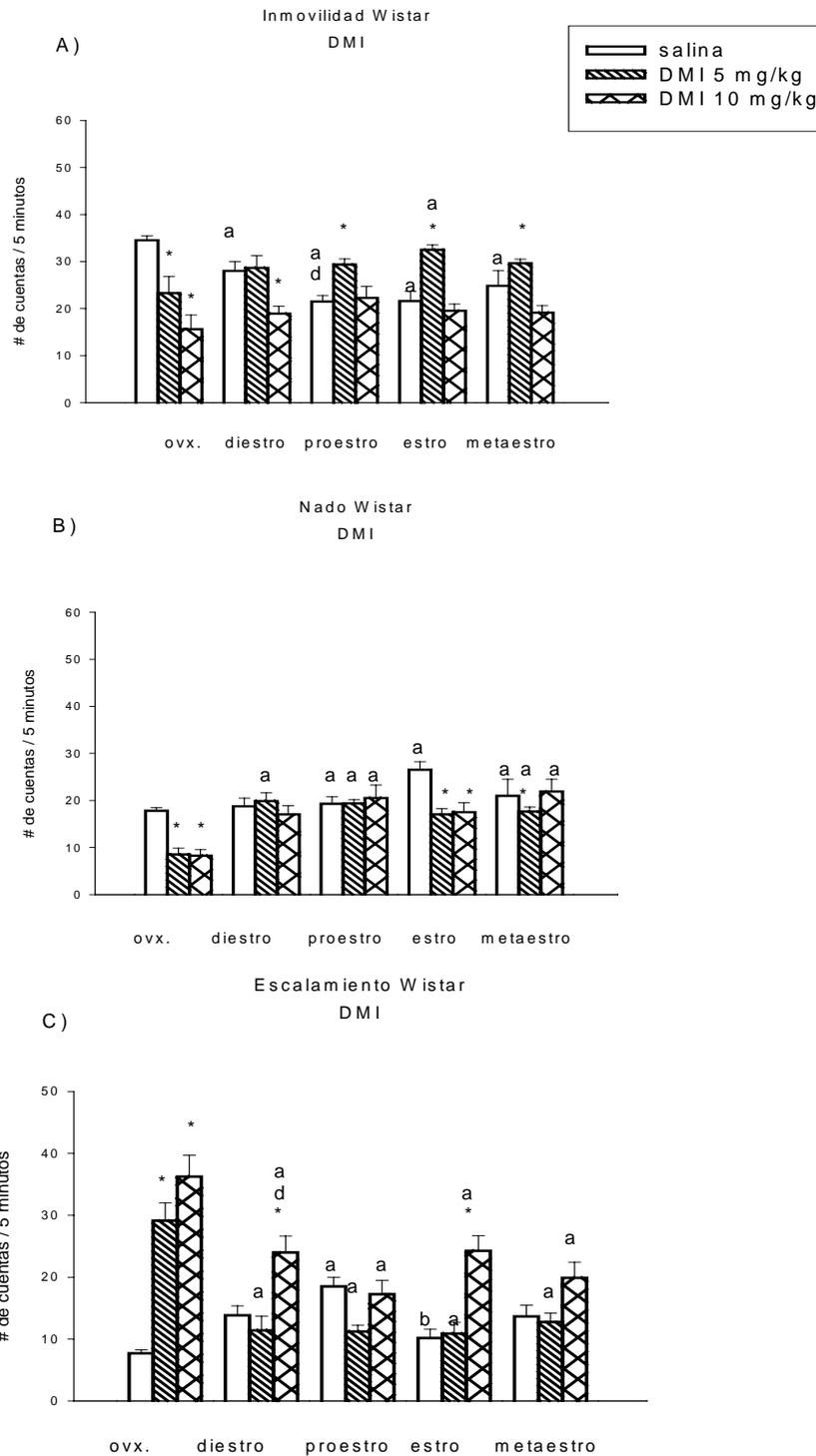
En los grupos tratados con solución salina, en las fases de proestro, estro y metaestro se observó el aumento de la conducta de nado con respecto al grupo control de hembras ovx ( $p < 0.05$ ). Además en los animales registrados en fase de estro el nado aumentó comparado a los registrados durante la fase de diestro ( $p < 0.05$ ).

El tratamiento con DMI (5 y 10 mg/kg) redujo significativamente los valores de nado en las ratas ovx ( $p < 0.05$ ). En los grupos tratados con DMI 5mg/kg que fueron registrados en las fases de estro, y metaestro se observó una disminución del nado al ser comparados con su grupo control y con el grupo de hembras ovx ( $p < 0.05$ ).

El ANOVA de 2 vías para la conducta de escalamiento de las ratas Wistar tratadas con DMI mostró que existen diferencias significativas dependientes de la condición endocrina ( $F:4,105= 9.78$   $p<0.001$ ), de la dosis administrada ( $F:4,105=45.49$   $p<0.001$ ) y de la interacción condición X dosis ( $F:4,105= 9.24$   $p<0.001$ ).

En los grupos intactos tratados con solución salina se observó que en el proestro hubo un aumento del escalamiento comparado con el grupo de ratas ovx ( $p<0.05$ ) y que en la fase de estro hubo un disminución del escalamiento respecto al proestro ( $p<0.05$ ). En lo que se refiere a las ratas ovx tratadas con DMI 5 y 10 mg/kg se observó un aumento del escalamiento respecto a su grupo control ( $p<0.05$ ) (Fig 9, panel C).

La dosis de 5 mg/kg es inefectiva en las ratas intactas en comparación con el grupo de hembras ovx con la misma dosis ( $p<0.05$ ). Finalmente, en las ratas intactas tratadas con DMI 10 mg/kg en las fases de estro y diestro se observó un aumento del escalamiento comparadas con sus respectivos grupos controles ( $p<0.05$ ); sin embargo, este aumento es menor que el que induce el fármaco en ratas ovx (Fig 9, panel C).



**Figura 9.-** Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepresiva de un ISRNA. Los datos representan la media + el error estándar de las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento registradas en el FST mostrada por las ratas Wistar en diferentes condiciones endocrinas tratadas con sol. Salina ó DMI en las dosis de 5 y 10 mg/lkg. Prueba de Tukey, \*= $p < 0.001$  gpo control salina vs tratados, a =  $p < 0.05$  fase vs ovx, b =  $p < 0.05$  proestro vs estro, d =  $p < 0.05$  proestro vs diestro.

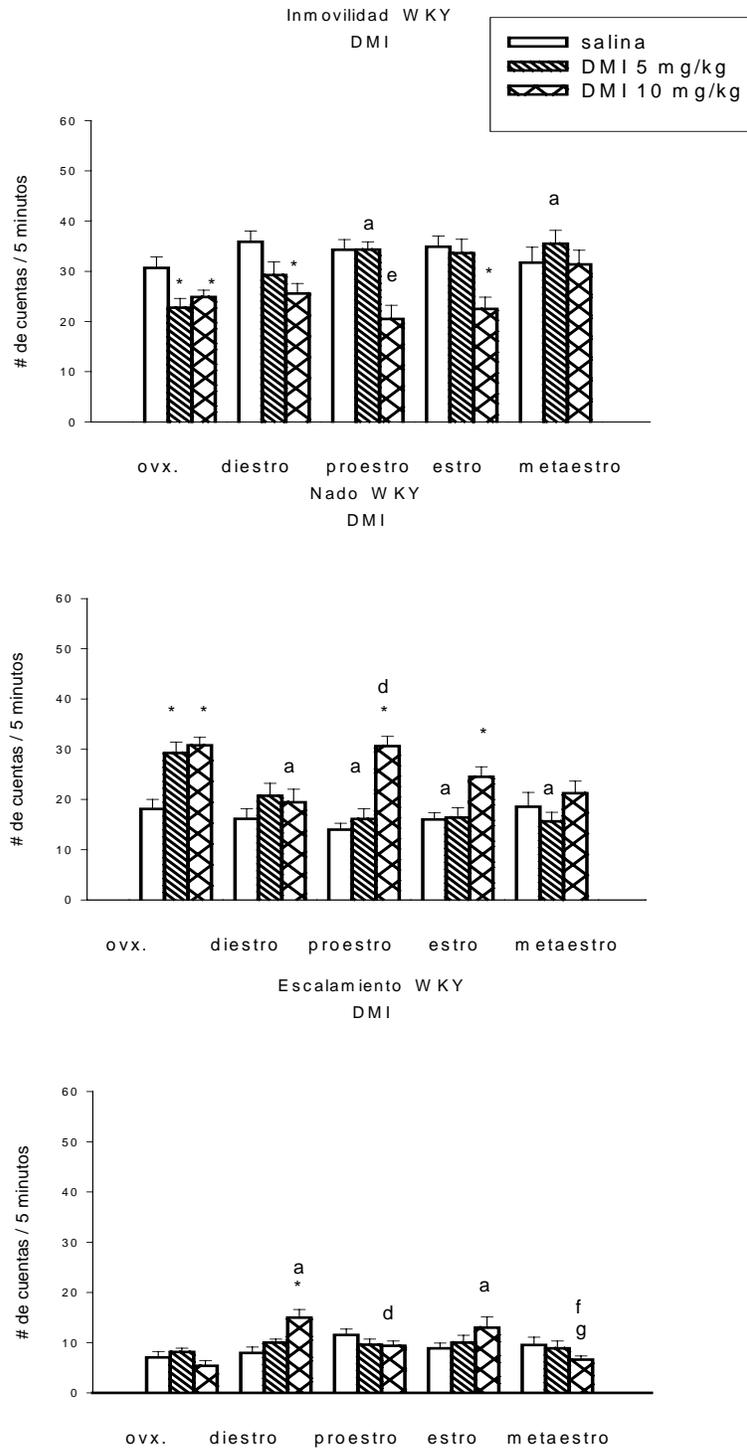
Finalmente, el ANOVA de 2 vías para las ratas WKY tratadas con DMI mostró que existen diferencias significativas en la conducta de inmovilidad que dependen de la condición endocrina ( $F:4,105=2.93$   $p=0.024$ ), de la dosis administrada ( $F:4,105=17.13$   $p<0.001$ ) y de la interacción condición X dosis ( $F:4,105= 2.08$   $p=0.043$ ).

Los grupos intactos tratados con solución salina, no mostraron diferencias en los valores de inmovilidad. En las hembras ovx las dosis de 5 y 10 mg/kg reducen la inmovilidad de manera significativa en comparación al grupo control ( $p<0.05$ ). Los grupos intactos tratados con DMI en la dosis de 5 mg/kg en las fases de proestro y metaestro mostraron un aumento de la inmovilidad respecto al grupo de hembras ovx tratadas con la misma dosis de DMI ( $p<0.05$ ) (Ver Figura 10, panel A). En contraste, los grupos tratados con DMI 10 mg/kg en las fases de proestro, estro y diestro mostraron una reducción de la inmovilidad comparadas con su respectivos grupo control tratado con solución salina ( $p<0.05$ ). Finalmente, la disminución de la inmovilidad fue mayor durante la fase de proestro respecto a la fase de diestro y metaestro ( $p<0.05$ ) (Fig 10, panel A).

El ANOVA de 2 vías mostró que existen diferencias significativas en la conducta de nado dependientes de la condición endocrina ( $F:4,105=3.75$   $p=0.007$ ), de la dosis administrada ( $F:4,105= 17.77$   $p<0.001$ ) y de la interacción condición X dosis ( $F:4,105= 3.64$   $p<0.001$ ).

En las ratas ovx los grupos tratados con las dosis de 5 y 10 mg/kg mostraron un aumento en la conducta de nado en comparación con su grupo control ( $p<0.05$ ). En las ratas intactas la dosis de 5 mg/kg resultó inefectiva para aumentar la conducta de nado en las fases de proestro, estro y metaestro en comparación a las ratas ovx tratadas con la misma dosis ( $p<0.05$ ) (Fig 5, panel B). Lo que respecta a la dosis de 10 mg/kg, las ratas en fase de diestro mostraron una disminución del nado en comparación con el grupo de ratas ovx ( $p<0.05$ ). Mientras que las ratas en fase de proestro y estro mostraron un aumento en la conducta de nado comparadas con su grupo control de solución salina que no fue mayor al efecto observado en las ratas ovx ( $p<0.05$ ). En la fase de proestro se observó un aumento en el nado respecto a la fase de diestro ( $p<0.05$ ) (Fig 10, panel B).

Por ultimo, el análisis estadístico mostró que existen diferencias en los valores de la conducta de escalamiento en las ratas WKY que dependen de la condición endocrina ( $F:4,105= 4.50$   $p=0.002$ ), sin que fuera significativa la dosis administrada pero si la interacción condición X dosis ( $F:4,105= 3.82$   $p<0.001$ ). En los grupos tratados con DMI en la dosis de 10 mg/kg en las fases de estro y diestro se observó un aumento del escalamiento con respecto al grupo de ratas ovx ( $p<0.05$ ); y en esa misma dosis se presentó una disminución en la conducta de escalamiento en la fase de metaestro con respecto al estro y al diestro ( $p<0.05$ ). Además, en el proestro se vió una disminución del escalamiento con respecto al diestro ( $p<0.05$ ) (Fig 10, panel C).



**Figura 10.-** Efecto de la condición endocrina sobre la acción antidepressiva de un ISRNA. Los datos representan la media + el error estándar de las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento registradas en el FST mostrada por las ratas WKY en diferentes condiciones endocrinas tratadas con sol. Salina ó DMI en las dosis de 5 y 10 mg/lkg. Prueba de Tukey, \*= $p < 0.001$  gpo control salina vs tratados, a =  $p < 0.05$  fase vs ovx, d=  $p < 0.05$  proestro vs diestro, e=  $p < 0.05$  metaestro vs proestro, f=  $p < 0.05$  estro vs metaestro, g=  $p < 0.05$  metaestro vs diestro.

## Resultados de la actividad ambulatoria:

Los resultados de la actividad ambulatoria del Experimento 1 se ilustran en la Tabla 8 como se puede observar no se encontraron diferencias significativas en el número de cuadros cruzados dependientes de la cepa o de la condición endocrina.

Condición endocrina	Wistar	WKY
Intactas en fase de diestro	40.0 ± 2.38	35.25 ± 2.38
ovx	39.25 ± 2.38	39.0 ± 2.38

**Tabla 8.-** Los datos representan la media ± el error estándar del número de cuadros cruzados en 5 minutos en la prueba de actividad ambulatoria de las ratas Wistar y WKY en diferentes condiciones endocrinas tratados con solución salina. ANOVA de dos vías n.s.

Los resultados de la actividad ambulatoria del Experimento 2 se ilustran en la Tabla 9 como se puede observar se encontraron diferencias significativas en el número de cuadros cruzados dependientes de la condición endocrina en la cepa Wistar (F: 4,79= 3.26, p=0.016), de la dosis administrada (F: 4,79= 29.49, p<0.001) y de la interacción condición X dosis (F: 4,79= 3.25, p=0.003).

En tanto que en la cepa WKY sólo se encontraron diferencias significativas dependientes de la dosis administrada (F: 4,91= 4.42, p=0.015).

Condición endocrina	Dosis administradas	Wistar	WKY
	salina	39.25 ± 2.87	39.0 ± 3.52
ovx	CMI 5	26.87 ± 2.87 *	40.38 ± 3.52
	CMI 10	22.87 ± 2.87 *	35.38 ± 3.52
	salina	40.0 ± 2.87	35.25 ± 3.52
diestro	CMI 5	46.50 ± 3.22 b	36.0 ± 4.06
	CMI 10	23.0 ± 3.22 *, a	37.4 ± 4.45
	salina	36.17 ± 3.22	40.0 ± 3.32
proestro	CMI 5	40.5 ± 3.22 b	34.0 ± 4.07
	CMI 10	26.60 ± 3.64 a	22.0 ± 4.45 *
	salina	29.80 ± 3.64 c	36.37 ± 3.0
estro	CMI 5	41.80 ± 3.64 b	31.5 ± 4.07
	CMI 10	21.40 ± 3.64 a	32.2 ± 4.45
	salina	46.83 ± 3.22	41.0 ± 3.32
metaestro	CMI 5	36.33 ± 3.22	32.67 ± 4.07
	CMI 10	28.0 ± 3.22 *	29.17 ± 4.07

**Tabla 9.-** Los datos representan la media ± el error estándar del número de cuadros cruzados en 5 minutos en la prueba de actividad ambulatoria de las ratas Wistar y WKY en diferentes condiciones endocrinas tratados con CMI (5 y 10 mg/kg). ANOVA de dos vías. \*= p<0.05, gpo control salina vs tratados; a= p<0.05, 5 mg/kg vs 10 mg/kg; b=p<0.05, fase de ciclo vs ovx; c=p<0.05, estro vs metaestro.

Los resultados de la actividad ambulatoria del Experimento 3 se ilustran en la Tabla 10 como se puede observar se encontraron diferencias significativas en el número de cuadros cruzados dependientes de la condición endocrina en la cepa Wistar (F: 4,78= 2.53,

p=0.047), de la dosis administrada (F: 4,78= 3.79, p=0.027) y de la interacción condición X dosis (F: 4,78= 2.46, p=0.020).

En tanto que en la cepa WKY sólo se encontraron diferencias significativas dependientes de la dosis administrada (F: 4,86= 16.42, p<0.001).

Condición endocrina	Dosis administradas	Wistar	WKY
	salina	39.25 ± 2.87	39.0 ± 3.52
ovx	DMI 5	22.63 ± 2.87 *	39.25 ± 3.52
	DMI 10	33.87 ± 2.87	25.12 ± 3.52 *, a
	salina	40.0 ± 2.87	35.25 ± 3.52
diestro	DMI 5	33.5 ± 3.31	32.60 ± 4.46
	DMI 10	36.4 ± 2.87	20.0 ± 4.46 *
	salina	36.17 ± 3.15	40.0 ± 3.33
proestro	DMI 5	31.17 ± 3.15	22.80 ± 4.46 *, b
	DMI 10	31.17 ± 3.15	27.20 ± 4.46
	salina	29.80 ± 3.61 c	36.35 ± 3.06
estro	DMI 5	36.40 ± 3.61	33.40 ± 4.46
	DMI 10	40.40 ± 3.61	22.0 ± 3.24 *
	salina	45.17 ± 3.15	41.0 ± 4.46
metaestro	DMI 5	38.33 ± 3.15 b	26.60 ± 4.46 *
	DMI 10	34.20 ± 3.15	28.60 ± 4.46

**Tabla 10.-** Los datos representan la media ± el error estándar del número de cuadros cruzados en 5 minutos en la prueba de actividad ambulatoria de las ratas Wistar y WKY en diferentes condiciones endocrinas tratados con DMI (5 y 10 mg/kg). ANOVA de dos vías. \*= p<0.05, gpo control salina vs tratados; a= p<0.05, 5 mg/kg vs 10 mg/kg; b=p<0.05, fase de ciclo vs ovx; c=p<0.05, estro vs metaestro.

## **DISCUSIÓN:**

La hipótesis de que existen diferencias en los valores de desesperanza conductual (inmovilidad) y en la respuesta a fármacos antidepresivos a lo largo del ciclo estral, en las ratas Wistar y WKY fue aceptada, ya que los resultados obtenidos en este trabajo muestran que las dos cepas de ratas reaccionan de manera diferente en el FST.

En general, las ratas WKY presentaron niveles de inmovilidad mayores a lo largo del ciclo estral en comparación con las ratas Wistar. Las ratas WKY son consideradas hiper-reativas al estrés ya que presentan respuestas conductuales y fisiológicas exageradas ante diversos estímulos estresantes en comparación con otras cepas de ratas como Wistar, Brown-Norway, Sprague-Dawley, Fischer 344 y SHR y Lewis (Lahmame y cols, 1997). De manera interesante, en estudios de Paré y Redei (1993) y López-Rubalcava y Lucki (2000) se demostró que las ratas macho WKY tienen una alta concentración de ACTH y de corticosterona en respuesta a estímulos estresantes agudos. Además, muestran mayor conducta de inmovilidad en el FST en comparación con las ratas macho Wistar. Con base en estos hallazgos, se ha propuesto a esta cepa de ratas como un modelo animal para el estudio de la depresión (López-Rubalcava y cols, 2000; Paré y Redei, 1993; Lahmame y cols, 1997; De la Garza y cols, 2004). Nuestros resultados, sobre desesperanza conductual, concuerdan con lo reportado por otros grupos de investigación que han utilizando ratas WKY, por lo que es posible extender a las hembras la propuesta del uso de esta cepa como un modelo animal para el estudio de la depresión (Paré y cols. 1989; 1993; 1995).

La relación entre el estrés y la depresión se ha observado a nivel clínico, donde los individuos que tienen una exposición crónica a eventos estresantes son más susceptibles a desarrollar depresión, ya que la regulación del eje H-H-A se altera y como resultado de esto, se presentan cambios que generan diversas patofisiologías, como los desórdenes de ansiedad y depresión (Tafet y Bernardini, 2003). La alteración de este eje en la depresión se caracteriza por niveles elevados de cortisol, el glucocorticoide más importante en el humano, ya que tanto la frecuencia como la duración de la secreción de esta hormona se incrementan. Aunque no existen estudios que demuestren que esta respuesta endocrina también se presente en las ratas hembras, nuestros resultados apoyan la propuesta de que las ratas WKY son más susceptibles al estrés y tal vez, la concentración elevada de

corticosteroides podría estar participando en la modulación de la respuesta conductual en el FST. Estudios posteriores permitirán confirmar o rechazar esta propuesta.

Las ratas Wistar presentaron diferencias conductuales a lo largo del ciclo estral, ya que tienen mayor conducta de inmovilidad en la fase de diestro, donde las concentraciones de la progesterona y estradiol son muy bajas, en comparación con las fases de proestro y estro, dos fases del ciclo que se caracterizan por tener concentraciones de hormonas ováricas más elevadas. Este resultado sugiere que las hormonas ováricas (progesterona y estradiol) podrían estar participando en la regulación de la desesperanza conductual a lo largo del ciclo estral en ratas de la cepa Wistar. Esta propuesta se sustenta en que la administración de estrógenos (Rachman y cols. 1998; Galea 2001; Estrada-Camarena, 2003) y de progesterona (Martínez-Mota 1999) inducen un efecto semejante al que provocan los antidepresivos en la prueba de nado forzado, es decir, disminuyen los niveles de inmovilidad y aumentan la frecuencia de las conductas activas. Por lo tanto, es posible considerar que las hormonas gonadales, presentes de manera natural durante el ciclo estral, ejerzan un rol como *antidepresivos naturales* en las ratas Wistar y protejan ante estímulos estresantes como lo es el FST.

De manera interesante y en relación a esto, se sabe que los niveles de los neuroesteroides se encuentran elevados en las fases de proestro y estro y han sido propuestos como posibles moduladores de las conductas depresivas, entre otras. En este sentido, en un estudio realizado por Frye y Walf (2002) con hembras en fases del ciclo estral como proestro y diestro, observan que hembras en la fase de proestro presentan bajos niveles de inmovilidad en el FST en comparación con hembras en fase de diestro, en la cual los niveles de neuroesteroides son bajos. Asimismo, notan que administrando de manera sistémica o intra hipocampal, la finasterida (un inhibidor de la enzima  $5\alpha$  reductasa, la encargada de convertir la progesterona a  $3\alpha, 5\alpha$ -THP), la conducta de inmovilidad se incrementaba en hembras en la fase de proestro y que los niveles de esta conducta se parecían a los que presentaban las hembras en fase de diestro y a los machos (Frye y Walf, 2002). Esto sugiere que la  $3\alpha, 5\alpha$ -THP podría estar modulando la conducta de inmovilidad en el modelo de nado forzado durante el ciclo estral de la rata. Estos hallazgos hablan de un posible efecto de los neuroesteroides en la modulación de la depresión experimental, que podrían estar actuando tal como las hormonas gonadales teniendo un efecto antidepresivo

en el FST. Más aún es posible que en el caso particular de la progesterona, sean sus metabolitos  $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -reducidos y no la progesterona misma los que provoquen sus acciones antidepresivas.

Lo que respecta a las ratas ovariectomizadas Wistar, éstas presentan niveles más elevados de inmovilidad (desesperanza) en comparación con las hembras en proestro y estro, lo que refuerza la hipótesis de protección por las hormonas gonadales. Más aún, en la presente serie experimental se observó que conforme disminuye la concentración de hormonas ováricas, como ocurre en las fases de metaestro y diestro, la inmovilidad se parece más a la de las hembras ovariectomizadas. Este aumento en la inmovilidad en las ratas ovariectomizadas no se debió a una baja actividad motora, como se evidencia con los resultados de la prueba de actividad ambulatoria en los animales tratados con solución salina.

Por su parte, las ratas WKY no presentaron diferencias conductuales a lo largo del ciclo estral en el FST, ya que tienen altos niveles de inmovilidad en todas las fases; esto podría sugerir que en las hembras WKY no hay una protección por parte de las hormonas durante las fases de proestro y estro. El resultado observado en las ratas WKY a lo largo del ciclo estral, podría relacionarse a la hiper-respuesta que muestran las WKY ante el estrés y a la alteración de la función del eje H-H-A, lo cual a su vez, favorecería una alteración en el funcionamiento del eje H-H-G. En este sentido, es posible que la hiper-respuesta al estrés mostrada por las ratas WKY, podría revertir los efectos “antidepresivos” de las hormonas gonadales. Esta propuesta, se sustenta en algunos trabajos que estudian la relación que tienen las hormonas gonadales y el eje H-H-A en la presencia y el desarrollo de trastornos afectivos causados por estrés. En un estudio realizado por Walf y Frye (2005) con ratas hembra, estudian la influencia de las diferentes concentraciones de estradiol en la expresión de ansiedad y depresión relacionadas con el estrés, además de medir el contenido de corticosteroides en los animales. En este estudio, observan que los efectos ansiolíticos y antidepresivos del estradiol se pierden cuando el contenido de corticosteroides es elevado o muy bajo, sin embargo, concentraciones fisiológicas de estradiol en combinación con corticosteroides a dosis medias producen un efecto ansiolítico y antidepresivo. Estos resultados sustentan la interacción de los ejes H-H-A e H-H-G en la modulación de la

ansiedad y la depresión, además sugieren que es necesario que exista una concentración óptima de corticosterona para que el estradiol ejerza sus efectos ansiolíticos y antidepresivos por sí solo. En base a la propuesta de que las ratas WKY presentan una alta concentración de corticosteroides como consecuencia a la hiper-respuesta al estrés, es posible que enmascaren el efecto antidepresivo de las hormonas gonadales.

Además se ha reportado que durante la etapa fetal, las hormonas gonadales pueden activar el eje H-H-A y se propone que esos mecanismos podrían ser la base para explicar la prevalencia de los trastornos afectivos en favor de las mujeres (Swaab y cols, 2005). Más aún en un estudio realizado por Wawrzycki y Frye (2003) donde estudian el efecto del estrés prenatal y la condición hormonal en ratas hembras y machos, observan que las hormonas gonadales (estradiol y dihidrotestosterona) ejercen efectos antidepresivos en los dos sexos utilizando el FST; sin embargo en las hembras que están expuestas al estrés prenatal, no se ve el efecto antidepresivo del estradiol en comparación con el grupo de ratas que no sufre estrés prenatal.

Más aún se sabe que el eje que regula el estrés (H-H-A) es afectado por cambios en la concentración de hormonas gonadales, tal como sucede, por ejemplo, en el periodo postparto, en la perimenopausia y en la fase lútea tardía del ciclo menstrual ya que en las mujeres que padecen depresión, los niveles plasmáticos de estrógenos y progesterona se encuentran disminuidos mientras que los niveles plasmáticos de andrógenos están elevados (Swaab y cols, 2005) En cambio, la presencia y el desarrollo de la depresión han sido asociados con una hipersecreción de cortisol. Esto explica en parte, el hecho de que la actividad del eje H-H-A se encuentra alterada e incrementada y relacionado a esto, la actividad del eje H-H-G se encuentra reducida (Swaab y cols, 2005). Es claro que el funcionamiento de un eje influirá sobre el funcionamiento del otro, por lo que es posible que la hiperactividad del eje H-H-A influya en la actividad del eje H-H-G y enmascare los cambios conductuales asociados a las fluctuaciones de las hormonas gonadales a lo largo del ciclo estral que fueron observados en la cepa WKY.

Por su parte, las ratas ovariectomizadas WKY no son diferentes a las WKY intactas ya que ambas presentan niveles elevados de inmovilidad y bajos niveles de las conductas activas: nado y escalamiento, un dato más que refuerza la propuesta de que en las WKY no

existe la protección que ejercen las hormonas gonadales ya que la supresión hormonal en esta cepa no altera más la expresión de la desesperanza.

De manera general, los antidepresivos disminuyen la conducta de inmovilidad a expensas del aumento de las conductas activas: nado o escalamiento, esta acción se interpreta como un efecto antidepresivo (Detke y cols, 1997). En el presente trabajo se utilizó un inhibidor de la recaptura de serotonina, la CMI, y un inhibidor de la recaptura de noradrenalina, la DMI, con el fin de evaluar su efecto en diferentes condiciones endocrinas en dos cepas de ratas. En las ratas Wistar ovx la CMI produjo un efecto antidepresivo a la dosis de 5 y 10 mg/kg. Este efecto se caracterizó por la disminución de la conducta de inmovilidad acompañada por el aumento de la conducta de nado, un perfil conductual similar al reportado para otros inhibidores de la recaptura de serotonina como la fluoxetina (Reneric y cols, 2002; Estrada-Camarena y cols, 2003 y 2004). Sin embargo, en hembras intactas no se observó un efecto antidepresivo mayor al que producen las hormonas solas, ya que la acción antidepresiva de la CMI se produjo durante la fase de proestro y no es diferente del grupo tratado con solución salina. Es complejo explicar la ausencia de efecto de la CMI en las ratas Wistar a lo largo del ciclo estral; sin embargo, este resultado coincide con otros estudios donde encuentran diferencias en la falta de respuesta a otros fármacos serotoninérgicos en diferentes fases del ciclo estral. Los estudios efectuados en ratas durante el ciclo estral son inconsistentes, ya que revelan la variación que puede ocurrir en un solo día del ciclo. Ciertos estudios describen una respuesta reducida al 8-OH-DPAT durante la fase de proestro (Maswood y cols, 1995; Uphouse y cols, 1991), en la cual la concentración de estrógenos comienza a elevarse, por lo que es difícil mencionar que este efecto corresponda solamente a los estrógenos, sin tomar en cuenta la contribución de la progesterona.

Por otra parte, en un estudio de microdiálisis *in vivo*, realizado por Gundlah y cols (1998), observan que la concentración basal de 5-HT es menor en ratas en fase de estro comparadas con hembras en fase de diestro y con los machos en el hipotálamo. Además, la administración de paroxetina, un ISRS, en la dosis de 10 mg/kg, produce un incremento en el contenido de 5-HT extracelular en el hipotálamo de ratas en fase de diestro y en los machos pero no así en las hembras en fase de estro; este resultado muestra claramente las diferencias de sexo en la liberación de 5-HT como también durante el ciclo estral. De esta

manera, en otro estudio realizado por Fernández-Guasti y cols (2006) donde estudian la interacción de las hormonas ováricas con fármacos serotoninérgicos en un modelo animal de trastorno obsesivo-compulsivo, observan que en ratas intactas la respuesta a la fluoxetina y al 8-OH-DPAT es menor en hembras en fase de estro en comparación con hembras en fase de proestro y diestro, asimismo, en ratas ovx la administración secuencial de estrógenos y progesterona se muestra una respuesta reducida a la fluoxetina.

Existen algunos mecanismos por los cuales, posiblemente, las hormonas ováricas podrían influenciar la síntesis y liberación de 5-HT; estos mecanismos involucran a los estrógenos y a la progesterona. Los estrógenos, por su parte, pueden inducir cambios en la expresión de la enzima triptofano hidroxilasa, así como del transportador de 5-HT (Bethea y cols, 2002; Pecins y cols, 1996). Mientras que la progesterona y sus metabolitos, producidos en el SNC, pueden unirse al receptor GABA<sub>A</sub> y con esto se incrementan los efectos inhibitorios de GABA, ya que este neurotransmisor inhibe la síntesis y la liberación de 5-HT en el núcleo del rafé (Tao y cols, 1996), este posible mecanismo podría ayudar a explicar el porqué durante la fase de estro ocurre una inhibición en la neurotransmisión serotoninérgica.

El presente trabajo, coincide con evidencias que señalan la ausencia de respuesta a compuestos serotoninérgicos en la fase de estro, la cual se caracteriza por la presencia de máximas concentraciones de estrógenos y progesterona y en la que al parecer, ocurre una disminución en la actividad serotoninérgica. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que sirvan para establecer los mecanismos involucrados en estas respuestas durante el ciclo estral.

También en las ratas WKY, el tratamiento con CMI fue inefectivo, tanto en hembras ovx como en intactas, no se observó ningún efecto antidepresivo con las dosis administradas. Diversos investigadores han encontrado diferencias entre cepas de ratas y la respuesta conductual que tienen ante diferentes clases de fármacos antidepresivos (Lahmame y cols, 1996; 1997; López-Rubalcava y cols, 2000). La respuesta de las ratas WKY ante fármacos serotoninérgicos ha sido explorada en diferentes trabajos que utilizaban ratas macho WKY (Lahmame y Amario, 1996; López-Rubalcava y Lucki, 2000). En diferentes pruebas conductuales, se ha encontrado que las WKY son resistentes al

tratamiento con fármacos serotoninérgicos tales como la fluoxetina (Griebel y cols, 1999), citalopram (Pollier y cols, 2000) y paroxetina (Tejani-Butt y cols, 2003). Estos resultados han llevado a tratar de indagar qué es lo que sucede con el sistema serotoninérgico de las ratas WKY, y se ha encontrado que después de que los animales son sometidos a condiciones de estrés con el FST muestran bajos niveles de 5-HT en la corteza prefrontal, núcleo accumbens, cuerpo estriado y amígdala, estructuras cerebrales que se asocian al control de las emociones (De la Garza y cols, 2004). Asimismo, se sabe que el estrés causa sobre-producción en la concentración de CRH y cortisol y que el estrés sostenido puede llevar a la disminución del contenido de 5-HT. Es posible que el alto contenido de corticosteroides en las ratas WKY afecte la disponibilidad de 5-HT y esto a su vez, modifique la respuesta a los antidepresivos serotoninérgicos.

La ausencia de respuesta que presentan las hembras WKY a compuestos serotoninérgicos, podría relacionarse con el estrés, ya que las WKY responden de manera incrementada ante estímulos estresantes y la 5-HT estimula el eje H-H-A. Como consecuencia de esta estimulación la corticosterona ejecuta diversas acciones regulatorias sobre el sistema serotoninérgico, y es posible que exista una interacción entre los corticosteroides y la baja sensibilidad del sistema serotoninérgico en las WKY. En apoyo a esta propuesta existen estudios en otras cepas de ratas que demuestran que el estrés continuo puede causar cambios en el sistema serotoninérgico a diferentes niveles, dichos cambios son similares a los encontrados en un subtipo de depresión y asociado con la inestabilidad en la regulación de la ansiedad y agresión (Van Praag, 2004). Por ejemplo, el receptor 5-HT<sub>1A</sub> responde de manera bifásica, ya que primero incrementa su actividad, con el tiempo disminuye su densidad y la sensibilidad. El impacto de la duración del estrés se manifiesta también en el receptor 5-HT<sub>2</sub>, inicialmente este receptor es desensibilizado pero el estrés continuo hace que la unión al receptor 5-HT<sub>2</sub> aumente (Van Praag, 2004).

En el experimento con DMI encontramos que sí hubo un efecto antidepresivo en las ratas Wistar ovx en las dos dosis (5 y 10 mg/kg), ya que se observó una reducción significativa de la conducta de inmovilidad a expensas de un aumento del escalamiento. Datos que concuerdan con reportes previos de nuestro grupo (Estrada-Camarena y cols, 2004). En las ratas Wistar intactas, se encontró que con la dosis de 10 mg/kg la inmovilidad disminuyó y el escalamiento aumentó sólo en las fases de metaestro y diestro.

Notablemente, esta dosis (10 mg/kg) que es efectiva en hembras ovariectomizadas (Estrada-Camarena y cols, 2003 y el presente trabajo), no produjo un efecto más grande que el observado durante el proestro y el estro en ratas sin tratamiento. Este resultado permitiría sugerir que la ausencia de hormonas ováricas permite que el efecto antidepresivo de la DMI se establezca, sin embargo estudios previos han mostrado que el efecto ansiolítico de la DMI es potenciado por las hormonas gonadales. En un paradigma de ansiedad (Martínez-Mota y cols, 2000) observan que la DMI produce un efecto ansiolítico cuando es administrada junto con estradiol o en combinación con estradiol y progesterona. Por lo que se refiere a la depresión experimental, estudios de otros grupos han mostrado que la DMI reduce significativamente la conducta de inmovilidad en ratas hembras durante las fases de proestro y estro (Contreras y cols, 1998). Más aún, en un estudio reciente se encontró que la administración exógena de estrógenos facilita la acción antidepresiva de la DMI en el modelo de nado forzado (Estrada-Camarena y cols 2004). Es posible que la discrepancia observada entre los resultados se deba, por un lado a diferencias metodológicas en cuanto a la evaluación de la inmovilidad; y por el otro, a la condición endocrina de los animales y que en el estudio de Estrada y cols (2004) los animales no recibieron progesterona. En este último punto se debe considerar que en diversos procesos biológicos, por ejemplo la formación de espinas dendríticas (McEwen y Alves, 1999), la combinación estrógenos-progesterona es antagónica y que esta última cancela los efectos del estrógeno. Sin embargo, ha sido poco explorado el mecanismo por el cual los estrógenos y/o la progesterona se encuentren modulando la neurotransmisión noradrenérgica por lo que estudios posteriores podrían esclarecer este punto.

Otra posibilidad es que en el modelo de nado observemos un efecto máximo de la combinación hormona-esteroide, por lo que no es posible detectar efectos adicionales sobre la disminución de la inmovilidad y el escalamiento, por lo que estudios posteriores utilizando dosis más bajas permitirán concluir este punto.

En lo que se refiere a las hembras WKY en diferentes fases del ciclo estral, tratadas con DMI, se encontró efecto antidepresivo sólo con la dosis de 10 mg/kg en el proestro, estro y diestro. Esta disminución de la inmovilidad fue asociada con un aumento en el nado, para las fases de proestro y estro y con el aumento del escalamiento durante el diestro. Una

respuesta similar se había reportado por otros autores que usaron tratamientos crónicos en ratas macho (Lahmame y cols, 1996; 1997; López-Rubalcava y cols, 2000). De forma interesante, las hembras ovx respondieron a las dosis de 5 y 10 mg/kg siguiendo el mismo perfil conductual. En relación a esto, los cambios neuroquímicos más sobresalientes que han sido reportados en la cepa WKY son la alta densidad de los transportadores de NA, así como un aumento en los receptores adrenérgicos  $\beta$  y  $\alpha_2$  en respuesta al estrés comparadas con las ratas Sprague-Dawley (Tejani-Butt y cols, 1994). Además, se ha visto que el estrés es capaz de alterar la actividad noradrenérgica (Valentino y cols, 1993) y es posible que esto de cómo resultado la respuesta que presentan las ratas WKY. Se sabe que el sistema serotoninérgico y el noradrenérgico, se encuentran funcionalmente relacionados, ya que por ejemplo, el receptor  $\alpha_2$  (hetero-receptor) regula la liberación de 5-HT en algunas áreas cerebrales (Stahl, 2000). Se sabe que como parte del mecanismo de acción de la DMI se requiere la desensibilización de receptores  $\alpha_2$  (Valentino y cols, 1993), lo que tiene como consecuencia el aumento en la liberación de serotonina en ciertas áreas cerebrales. En un sistema donde el sistema noradrenérgico parece compensar las alteraciones en el funcionamiento del sistema serotoninérgico, como es el caso de las ratas WKY, es posible considerar que el efecto de la DMI sobre la conducta de nado se deba a la interacción NA/5-HT.

De manera interesante en esta cepa el efecto antidepresivo de la DMI fue dependiente de la fase del ciclo estral, ya que en las fases en proestro y estro en las cuales las hormonas ováricas están presentes la disminución de la inmovilidad se debió al aumento del nado; en contraste con el diestro (niveles hormonales bajos), donde aumentó el escalamiento. Este resultado sugiere que la ausencia de hormonas permite que el perfil conductual de la DMI se establezca a diferencia de las otras fases donde la presencia de hormonas favorece que la interacción NA/5-HT y observamos un efecto sobre el nado. Este resultado es una evidencia más a favor de que el sistema serotoninérgico es modulado por las hormonas gonadales y del rol de esta interacción en un modelo animal de depresión.

La coexistencia de la ansiedad y la depresión ha sido bien documentada (Wise y Taylor, 1990; Parker, 2000). Se ha descrito un subtipo de depresión el cual se caracteriza por episodios donde hay un incremento de la ansiedad y manifestaciones de agresión e irritabilidad, si esos episodios son más frecuentes, entonces se desarrolla depresión (Van

Prag 2004). Es importante señalar que algunas de las alteraciones del estado de ánimo en la mujer han sido ligadas a las oscilaciones hormonales del ciclo menstrual donde se reconoce al SPM y al DDPM (DSM-IV). El SPM se refiere a los desórdenes del estado de ánimo cíclicos con síntomas tales como irritabilidad, depresión y ansiedad moderada, mientras que el DDPM es una forma más severa de este padecimiento (Rubinow y Roca 2004). Hasta el momento no se ha encontrado un modelo animal que permita el estudio de esta patología debido a la complejidad de la sintomatología. Las ratas WKY han sido propuestas como un modelo de depresión inducida por ansiedad (Paré y Redei, 1989) y, aunque no existen estudios que describan la conducta de agresión en esta cepa, es posible considerar que podría servir como un modelo animal para el estudio del SPM y/o el DDPM, ya que observaciones preliminares de nuestro grupo indican que existe un alto índice agresión.

Esto implicaría que además de alteraciones en sistema serotoninérgico también existirían alteraciones en otros sistemas como el GABAérgico y el noradrenérgico que podrían estar influyendo en la respuesta a los fármacos antidepresivos y en las acciones “protectoras” de las hormonas gonadales. Es importante considerar que en esta cepa de ratas no se ha explorado si otros sistemas de neurotransmisión están alterados como en el caso del sistema serotoninérgico. Este punto podría ser importante si consideramos que algunas de las acciones antidepresivas de los estrógenos han sido ligadas a su actividad sobre el sistema serotoninérgico (Bethea y cols, 1998; Rachman et al; Estrada-Camarena 2006); mientras que las acciones antidepresivas de las progestinas han sido asociadas a su actividad sobre el sistema GABAérgico (Frye y cols, 2002; Molina-Hernández y cols, 2001; Estrada-Camarena y cols, 2002).

Con base en los resultados obtenidos se refuerza la propuesta de que las ratas WKY representan un modelo para evaluar la depresión, además de ser también un modelo de depresión resistente a fármacos antidepresivos serotoninérgicos. Ya que la regulación del eje HHA está en íntima relación con el eje HHG, esta cepa podría constituir un buen modelo animal para el estudio de las relaciones entre los ejes H-H-A y el H-H-G.

## **CONCLUSIONES:**

Las ratas de la cepa Wistar y las ratas WKY responden de manera diferente a lo largo del ciclo estral en el FST.

Las ratas de la cepa WKY intactas presentan mayores niveles de inmovilidad en comparación a las ratas de la cepa Wistar intactas, independientemente de la fase del ciclo estral.

La supresión de las hormonas gonadales, por ovariectomía, disminuye los niveles de desesperanza en la cepa WKY, mientras que en la cepa Wistar incrementa los mismos.

Las fluctuaciones de la concentración de hormonas gonadales influyen en el efecto de fármacos antidepresivos independientemente de la cepa de ratas estudiada.

Las ratas hembra WKY sirven como un modelo para el estudio de la depresión, de resistencia a fármacos antidepresivos serotoninérgicos y de las interacciones entre los ejes H-H-A y el H-H-G.

## REFERENCIAS:

Adler N T. 1981. Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behavior. Plenum Press, New York and London.

Alonso S. J, Castellano M.A, Afonso D, Rodriguez M. 1991. Sex differences in behavioral despair: relationships between behavioral despair and open field activity. Physiology & Behavior 49: 69-72.

Artigas F, Pérez V, Álvarez E. 1994. Pindolol induces a rapid improvement of depressed patients treated with serotonin reuptake inhibitors. Arch Gen Psychiat 51: 248-251.

Barbaccia ML, Concas A, Serra M, Biggio G. 1998. Stress and neurosteroids in adult and aged rats. Exp Gerontol. (7-8): 697-712.

Bernardi M, Vergoni A, Sandrini M, Tagliavini S, Bertolini A. 1989. Influence of ovariectomy, estradiol and progesterone on the behavior of mice in experimental model of depression. Physiol Behav 45:1067-1068.

Bethea CL, Pecins-Thompson M, Schutzer W, Gundlach C, Lu Z. 1998. Ovarian steroids and serotonin neural function. Mol Neurobiol 18: 87-122.

Bicikova M, Dibbelt L, Hill M, Hampl R, Starka L. 1998. Allopregnanolone in women with premenstrual syndrome. Horm Metab Res. 30(4): 22730.

Bicikova M., Tallova J., Hill M., Krausova A., Hampl R., 2000. Serum concentrations of some neuroactive steroids in women suffering from mixed anxiety–depressive disorder. Neurochem. Res. 25, 1623–1627.

Biegon A, Grinspoon A, Bleich A, Apter A, Mester R. 1990. Increased serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor binding on blood platelets of suicidal men. Psychopharmacology 100: 165-167.

Bitran D, Purdy RH, Kellog CK. 1993. Anxiolytic effect of progesterone is associated with increases in cortical allopregnanolone and GABA<sub>A</sub> receptor function. Pharmacol Biochem Behav 45(2): 423-8.

Bloom FE, Kupfer DJ (Eds) Psychopharmacology: The fourth Generation of Progress, Raven Press, New York.

Blum I, Verred Y, Lipshtz A, Harel D, Blum M, Nordenberg Y, Harsat A, Sulkes J, Gabbay V, Graff E. 1996. The effect of estrogen replacement therapy on plasma serotonin and catecholamines of postmenopausal women. Isr J Med Sci 32:1158-1162.

Borsini F, Meli A. 1988. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology* 94: 147-160.

Brown Richard E. 1999. *An introduction to neuroendocrinology*. Cambridge University Press.

Caraveo-Arduaga J, Colmenares E, Saldivar G. 1999. Estudio clínico-epidemiológico de los trastornos depresivos. *Salud mental* 22: 7-17.

Contreras CM, Martínez-Mota L, Saavedra M.1998. Desipramine restricts estral cycle oscillations in swimming. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 22 (7): 1121-8.

Chrousos GP.1995. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med*. 18, 332 (20): 1351-62.

Cullberg J. 1972. Mood changes and menstrual symptoms with different gestagen/estrogen combinations: a double blind comparison with a placebo. *Acta Psychiatr Scand Suppl*; 236: 1-86.

Czlonkowska AI, Zienwicz M, Bidzinski A, Maciejak P, Lehner M, Taracha E, Wislowska A, Plaznik A.2003. The role of neurosteroids in the anxiolytic, antidepressive-and anticonvulsive effects of selective serotonin reuptake inhibitors . *Med Sci Monit* 9(11):RA270-5.

Davis K. L, Charney D, Coyle J. T, Nemeroff C. 2002. *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress*. An official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology. Lippincott Williams & Wilkins.

De La Garza II R, Mahoney III J J. 2004. A distinct neurochemical profile in WKY rats at baseline and in response to acute stress: implications for animal models of anxiety and depression. *Brain Research* 1021: 209-218.

Detke M, Johnson J, Lucki I. 1997. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol* 5: 107-112.

Detke M, Rickels M; Lucki I. 1995. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially activated by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology* 121: 66-72.

DSM-IV 1998. *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. American Psychiatric Association.

Dubrovsky BO. 2005 Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29:169-192.

Duman R. 1999. The neurochemistry of mood disorders: preclinical studies. En: Charney D, Nestler E, Bunney B (eds)

- Ellis P, Salmond C. 1994. Is platelet imipramine binding reduced in depression? A meta-analysis. *Biol Psychol* 36: 292-299.
- Epperson G, Wisner K. M, Yakamoto B. Gonadal steroids in the treatment of mood disorders. *Psychosomatic Medicine* 61: 676-697 (1999).
- Eriksson E, Sundbland C, Lisjo P, Modigh K, Andersch B. 1992. Serum levels of androgens are higher in women with premenstrual irritability and dysphoria than in controls. *Psychoneuroendocrinology* 17 (2-3): 195-204.
- Eriksson E, Andersch B, Ho HP, Landen M, Sundblad C. 2001. Serotonin uptake inhibitors provide rapid relief from premenstrual dysphoria. New findings shed light on how serotonin modulates sex hormone-related behavior. *Lakartidnigen* 22,98(34): 3524-30.
- Estrada-Camarena E, Contreras C.M, Saavedra M, Luna-Baltazar I, López-Rubalcava C. 2002. Participation of the lateral septal nuclei (LSN) in the antidepressant-like actions of progesterone in the forced swimming test (FST). *Behav Brain Res* 134: 175-183.
- Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Rubalcava C. 2003. Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology* 28 (5): 830-38.
- Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Rubalcava C. 2004. Interaction between estrogens and antidepressants in the forced swimming test in rats. *Psychopharmacology* 173(1-2): 139-45.
- Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Rubalcava C. 2006. Participation of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor in the antidepressant-like effect of estrogens in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology* 31(2): 247-55.
- Feldman R, Meyer J, Quenzer L. 1996. *Neuropsychopharmacology*. Sinauer.
- Fernandez-Guasti A, Martinez-Mota L, Estrada-Camarena E, Contreras CM, López-Rubalcava C. 2000. Chronic treatment with desipramine induces an estrous cycle-dependent anxiolytic-like action in the burying behavior, but not in the elevated plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav* 63(1):13-20.
- Fernández-Guasti A, Picazo O. 1990. The actions of diazepam and serotonergic anxiolytics vary according to the gender and the estrous cycle phase. *Pharmacol Biochem Behav* 37 (1): 77-81.
- Fuxe K, Hillarp NA. 1964. Uptake of L-dopa and noradrenaline by central catecholamine neurons. *Life Sci* 3:1403-6.

Frye CA, Walf A. 2002. Changes in progesterone metabolites in the hippocampus can modulate open field and forced swimming test behavior of proestrous rats. *Horm Behav* 41(3): 306-15.

Frye CA, Wawrzycki J. 2003. Effect of prenatal stress and gonadal hormone condition on depressive behaviors of female and male rats. *Horm Behav* 44 (4): 319-26.

Galea L, Wide J, Barr A. 2001. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression. *Behavioral Brain Res* 122: 1-9.

Garlow S, Musselman D, Nemeroff C. 1999. The neurochemistry of mood disorders: clinical studies. En Charney D, Nestler E, Bunney B (eds) *Neurobiology of mental illness* 1st edition Oxford University Press.

Gorbman A. 1993. *Comparative Endocrinology*. Ed. John Wiley & Sons. New York.

Griebel G, Cohen C, Perrault G, Sanger D J. 1999. behavioral effects of acute and chronic fluoxetine in Wistar-Kyoto rats. *Physiol. Behav.* 67: 315-320.

Griffith LD, Mellon SH. 1999. Selective serotonin reuptake inhibitors directly alter activity of neurosteroidogenic enzymes. *Proc Natl. Acad Sci. U.S.A.* 96: 13512-13517.

Guidotti A, Costa E. 1998. Can the antidepressant and anxiolytic profiles of selective serotonin reuptake inhibitors be related to their ability to increase brain 3 alpha, 5 alpha-tetrahydroprogesterone (allopregnanolone) availability? *Biol Psychiatry.* 1;44(9):865-73.

Guyton A. 1986. *Tratado de Fisiología Médica*. Mc Graw-Hill Interamericana.

Halbreich U, Kahn L. 2001. Role of estrogen in the aetiology and treatment of mood disorders. *CNS Drugs* 15: 797-817.

Hammarback S, Bakstrom T, Holst J, von Schoultz B, Lyrenas S. 1985. Cyclical mood changes as in the premenstrual tension syndrome during sequential estrogen-progestagen postmenopausal replacement postmenopausal therapy. *Act Obstet Gynecol Scand* 64(5): 393-7.

Hendrick V, Althuler L. 2002. Management of major depression during pregnancy. *Am Psychiatry* 159(10): 1667-73.

Ho HP, Olsson M, Westberg L, Melke J, Eriksson E. 2001. The serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces sex steroid-related aggression in female rats: an animal model of premenstrual irritability? *Neuropsychopharmacology* 24 (5): 502-10.

Hu WP, Guan BC, Ru LQ, Chen JG, Li ZW. 2004. Potentiation of 5-HT<sub>3</sub> receptor function by the activation of coexistent 5-HT<sub>2</sub> receptors in trigeminal ganglion neurons of rats. *Neuropharmacology* 47(6): 833-40.

Lahmame A, Del Arco C, Pazos A, Yritia M, Armario A. 1997. Are Wistar-Kyoto rats a genetic animal model of depression resistant to antidepressants? *Eur J Pharmacol* 337: 115-123.

Lahmame A, Grigoriadis D, De Souza E, Armario A. Brain corticotropin-releasing factor immunoreactivity and receptors in five inbred rat strains: relationship to forced swimming behavior. *Brain Research*; 750 (1997) 285-292.

López-Rubalcava C, Lucki I. 2000. Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology* Vol. 22, No. 2, 191-199.

Lucki I. 1997. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol* 8:523-532.

Lucki I, Singh A, Kreiss D. 1994. Behavioral studies of serotonin receptor agonist as antidepressant drugs. *Neurosci Biobehav Rev.* 18: 85-95.

Maas J, Fawcett J, Dekimenjias H. 1972. Catecholamine metabolism, depressive illness and drug response. *Arch Gen Psychiat* 26: 252-262.

Maes M, Jacobs M-P, Suy E, Minner B, Leclercq C, Christiaens F, Raus J. 1990. Suppressant effects of dexamethasone on availability of plasma L-tryptophan and tyrosine in healthy controls and depressed patients. *Act Psychiatr Scand* 81: 19-23.

Martínez-Mota L, Contreras CM, Saavedra M. 1999. Progesterone reduces immobility in rats forced to swim. *Arch Med Res* 30:286-289.

Martínez-Mota L, Estrada-Camarena E, López-Rubalcava C. 2002. Indorrenalate produces antidepressant-like actions in the rat forced swimming test via 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Psychopharmacology* 165: 60-66.

Marván ML, Chávez-Chávez L, Santana S. 1996. Clomipramine modifies fluctuations of forced swimming immobility in different phases of the rat estrous cycle. *Arch Med Res* 27: 83-86.

Marván ML, Chávez-Chávez L, Santana S, Bertran M. 1997. Inescapable shocks accentuate fluctuations of forced swimming immobility in different phases of the rat estrous cycle. *Arch Med Res.* 28(3):369-72.

Mc Ewen B, Alves S. 1999. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocrine Rev* 20: 279-307.

Meana J, Bartruen F, García-Sevilla J. 1992. Alpha-2 adrenoreceptors in the rat brain of suicide victims: increased receptor density associated with major depression. *Biol Psychiat* 31: 471-490.

Menkes DB, Coates DC, Fawcett JP. 1994. Acute tryptophan depletion aggravates premenstrual síndrome. *J Affect Disord* 32(1): 37-44.

Millan M, Brocco M, Veiga S, Cistarelli L, Melon C, Gobert A. 1998. WAY 100 6353 enhances both the “antidepressants” actions of duloxetine and its influence on dialysate levels of serotonin in frontal cortex. *Eur J Pharmacol* 341: 165-167.

Molina-Hernandez M, Tellez-Alcantara N.P. 2001. Antidepressant-like actions of pregnancy, and progesterone in Wistar rats forced to swim. *Psychoneuroendocrinology* 26: 479-491.

Nemeroff C. 1998. The neurobiology of depression. *Scientific American* June 42-49.

Okamoto K, Aoki K. 1963. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jap Cir Journal* 27: 282-293.

Paré W, Redei E. 1989. WKY rats as a model for anxiety-induced depression. *Soc. Neurosci Abstr* 15: 759.

Paré WP. 1994. Open field, learned helplessness, conditioned defensive burying, and forced-swim tests in WKY rats. *Physiol Behav* 55(3): 433-9.

Paré W, Redei E. Sex differences and stress response of WKY rats. *Physiology & Behavior* vol. 54 (1993) 1179-1185.

Parker G. 2000. Classifying depression: should paradigms lost be regained? *Am. J Psychiatry* 157: 1195-1203.

Patchev VK, Montkowski A, Rouskova D, Koranyi L, Holsboer F, Almeida OF. 1997. Neonatal treatment of rats with the neuroactive steroid tetrahydrodeoxycorticosterone (THDOC) abolishes the behavioral and neuroendocrine consequences of adverse early life events. *J Clin Invest.* 1997 Mar 1;99(5):962-6.

Pearlstein T. 2002. Selective serotonin reuptake inhibitors for premenstrual dysphoric disorder: the emerging gold standard? *Drugs* 62(13): 1869-85.

Picazo O, Fernández-Gusti A. 1995. Anti-anxiety effects of progesterone and some of its reduced metabolites: an evaluation using the burying behavior test. *Brain Res.* 1995 May 22;680(1-2):135-41.

Pollier F, Sophie S, Aguerre S, Ebinger G. 2000. serotonin reuptake inhibition by citalopram in rats strain differing for their emotionality. *Neuropsychopharmacol* 22: 64-76.

Porsolt R, Anton G, Blauet N, Jalfre M. 1978. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J of Pharmacol* 47: 379-391.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* (1977) 266 : 730-732.

Porsolt RD, Lenegré A. 1992. Behavioral models of depression. En Elliot J, Heal D, Maisden C (eds), *Experimental approaches to anxiety and depression*. 1° ed. New York, Willey, pp 73-85.

Purves D, Augustine G, Fitzpatrick D, Katz L, LeMantia A-S, Mc Namara J. 2001. *Invitación a la Neurociencia*. Ed Médica Panamericana. 611 p.

Rachman I, Unnerstall J, Pfaff D, Cohen R. 1998. Estrogen alters behavior and forebrain c-fos expression in ovariectomized rats subjected to the forced swim test. *Proc Natl Acad Sci, USA* 95: 13941-13946.

Rapkin AJ, Morgan M, Goldman L, Brann DW, Simone D, Mahesh VB. 1997. Progesterone metabolite allopregnanolone in women with premenstrual syndrome. *Obstet Gynecol*. 1997 Nov;90(5):709-14.

Rapkin AJ. 1992. The role of serotonin in premenstrual syndrome. *Clin Obstet Gynecol*. 1992 Sep;35(3):629-36.

Reneric JP, Bouvard M, Stinus L. 2002. In the rat forced swimming test, NA-system mediated interactions may prevent the 5-HT properties of some subacute antidepressant treatments being expressed. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2002 Apr;12(2):159-71.

Rittenhouse PA, López-Rubalcava C, Stanwood GD, Lucki I. 2002. Amplified behavioral and endocrine responses to forced swim stress in the Wistar-Kyoto rat. *Psychoneuroendocrinology* 27: 303-318.

Roca CA, Schmidt PJ, Altemus M, Deuster P, Danaceau MA, Putnam K, RUBINOW DR. 2003. Differential menstrual cycle regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in women with premenstrual syndrome and controls. *J Clin Endocrinol Metab* 88 (7): 3057-63.

Rubinow DR, Schmidt PJ, Roca CA. 1999. Estrogen-serotonin interactions: implications for affective regulation. *Biol Psychiatry*. 1998 Nov 1;44(9):839-50.

Schildkraut J. 1973. Norepinephrine metabolites as biochemical criteria for classifying depressive disorders and predicting response to treatment. *Am J Psychiat* 130: 695-699.

Schmidt P J, Nieman L K, Danaceau M, Adams L F, Rubinow D R. 1998. Differential behavioral effects of gonadal steroids in women with and in those without premenstrual syndrome. *N. Engl. J. Med.* 338, 209-216.

Schmidt PJ, Nieman L K, Grover GN, Muller KL, Merriam GR, Rubinow DR. 1991. Lack of effect of induced menses on symptoms in women with premenstrual syndrome. *N Engl J Med* 324: 1174–9.

Smith S. Withdrawal properties of a neuroactive steroid: implications for GABA a receptor gene regulation in the brain and anxiety behavior. *Steroids* 67 (2002) 519-528.

Stahl S. 1998c. Basic psychopharmacology of antidepressants. Part 1: Antidepressants have seven mechanisms of action. *J Clin Psychiat* 59: 5-14.

Stahl S. 2000. Classical antidepressants, serotonin selective reuptake inhibitors and noradrenergic reuptake inhibitors. En *Essential Psychopharmacology. Neuroscientific basis and practical applications* 2° edition. Cambridge University Press. Pp 199-243.

Steiner M, Dunn E, Born L. Hormones and mood: from menarche to menopause and beyond. *Journal of affective disorders* 74 (2003) 67-83.

Steiner M, Born L. 2000. Diagnosis and treatment of premenstrual dysphoric disorder: an update. *Int Clin Psychopharmacol.* 15 Suppl 3:S5-17

Steiner M, Korzekwa MI. 1997. Premenstrual syndromes. *Clin Obst Gynecol* 40(3): 564-76.

Ströhle A, Romeo E, di Michele F, Pasini A, Hermann E, Gajewski G, Holsboer F, Rupprecht F. 2003. Induced panic attacks shift gamma-aminobutyric acid type A receptor modulatory neuroactive steroid composition in patients with panic disorder: preliminary results. *Arch Gen Psychiatry.* 2003 Feb;60(2):161-8

Swaab DF, Bao AM, Lucassen PJ. 2005. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev.* 4 (2); 141-94.

Tafet GE, Bernardini R. 2003. Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depresión. *Prog Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry* 27(6): 893-903.

Tejani-Butt S, Kluczynski J, Paré WP. 2003. Strain-dependent modification of behavior following antidepressant treatment. *Prog in Neuro-Psychopharmacol & Biol Psych* 27: 7-14.

Tejani-Butt S M, Paré W P, Yang J. 1994. Effect of repeated novel stressors on depressive behavior and brain norepinephrine receptor system in Sprague Dawley and Wistar Kyoto rats. *Brain Res.* 649: 27-35.

Uzunova V., Sheline Y., Davis J.M., Rasmusson A., Uzunov D.P., Costa E., Guidotti A., 1998. Increase in the cerebrospinal fluid content of neurosteroids in patients with unipolar major depression who are receiving fluoxetine or fluvoxamine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 3239– 3244.

Valentino RJ, Foote SL, Page ME. 1993. The locus coeruleus as a site for integrating corticotropin-releasing factor and noradrenergic mediation of stress responses. *Ann NY Acad Sci* 29, 697: 173-88.

Van Praag H. 1982. Depresión, suicide and metabolites of serotonin in the rat brain. *J Affect Disord* 4: 21-29.

Van Praag H M. 2004. Can stress cause depresión? *Prog Neuro-Psychopharmacol & Biol Psych*. 28: 891-907.

Walf A, Frye CA. 2005. Antianxiety and antidepressive behavior produced by physiological estradiol regimen may be modulated by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Neuropsychopharmacology*. 2005 Jul;30(7):1288-301.

Wawrzycki J, Frye CA. 2003. Effect of prenatal stress and gonadal hormone condition on depressive behaviors of female and male rats. *Horm Behav* 44(4):319-26.

Wilner P. 1994. Animal models of depression. En *Handbook of depression and anxiety. A biological approach*. De Boer J, Sitsen J (eds). Marcel Dekker Inn. N. Y. pp 291-316.

Wise M. G, Taylor S.E. 1990. Anxiety and mood disorders in medically ill patients. *J Clin Psychiatry* 51: 27-32.

Yadid G, Nakash R, Deri I, Tamar G, Kinor N, Gispan I, Zangen A. 2000. Elucidation of the neurobiology of depression: insights from a novel genetic animal model. *Progress in Neurobiology* 62: 353-378.