



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**"EFECTO ANSIOLÍTICO DE FLUOXETINA E INDORRENATO EN RATAS
HEMBRA CON DIFERENTES CONDICIONES ENDÓCRINAS"**

T E S I S

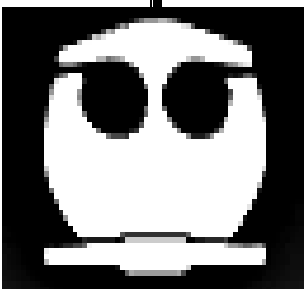
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A

FANNY MARIELA TORRES BECERRIL

MÉXICO, D.F.

2007





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Prof. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez
Vocal	Prof. Andrés Navarrete Castro
Secretario	Profa. Lucía Alba Martínez Mota
1er. Suplente	Profa. María Elena Ibarra Rubio
2do. Suplente	Prof. Oscar Armando Pérez Méndez

Sitio donde se desarrolló el tema:


Laboratorio de Farmacología Conductual. Dirección de Investigaciones en Neurociencias,
Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

Asesora del tema



Dra. Lucía Alba Martínez Mota

Sustentante



Fanny Mariela Torres Becerril

La presente tesis forma parte del proyecto 3370 del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, y recibió apoyo financiero de los Fondos de financiamiento externo del INPRFM, sub-cuenta 109-LMM, y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, proyecto 62020.

Agradecimientos

Quiero manifestar mi gratitud a las siguientes personas, que con su ayuda y su apoyo han contribuido a hacer realidad este libro:

A la Dra. Lucy, cuya exigente ética laboral me hizo dar lo mejor de mí, gracias a tu confianza, a tu gran paciencia y a tu actitud alentadora, me diste el valor de terminar este trabajo.

A la Dra. Erica, que con su preparación científica y continua orientación logro afinar este proceso.

A mis sinodales, gracias a sus comentarios y críticas me permitieron enriquecer este escrito.

A Malenita, porque fuiste la primer persona que creyó en mi, siempre con tu ánimo me levantaste y me impulsaste a seguir a delante, gracias.

A ti papi Luis, mi gratitud por tu ayuda es infinita e incomparable.

A ti Margarita, por que tú eres la segunda persona a quien le debo parte de este libro ya que sin tu valioso apoyo no se hubiera podido realizar. También, a usted Jorge, le agradezco su inmenso apoyo y cariño que me mostró.

A mis hermanos que amo tanto, Israel y Luis, por compartir conmigo durante este trayecto largo sus alegrías y su delicioso sentido del humor.

A mis cuñados Jorge y Javier, por que en estos años me han ofrecido su apoyo incondicional y su extraordinaria amistad.

A mis tías que quiero tanto: Luz, Chayo, Ali, Azalea, Rosy, Marisela, etc., gracias por demostrarme el verdadero significado de la mujer, valentía y fortaleza.

A usted mamá Elena, por ser mi ejemplo a seguir.

A mamá Jose y papá Bayo, por que aunque estén lejos les agradezco mucho formar parte de mi vida.

A toda la familia Becerril, tíos (as), primos (as), etc., por sus opiniones que día a día me llevaron a concluir esto que un día inicie.

A todas mis amigas y compañeros que me compartieron durante todo este tiempo su amistad.

A ti Zuyuami, gracias por que a tu corta edad me has comprendido de una manera inigualable, gracias por el tiempo que te pertenecía y por ser el motivo de levantarme cada mañana.

Por último, y no menos importante a mi esposo Manuel, gracias por depositar tu confianza en mi y por todo el amor que me has brindado en todos estos años.

Dedicatorias

Este libro va dedicado a una persona muy especial y para las cuatro personas más importantes de mi vida.

Para ti Luis, quiero que sepas que siempre me has importado mucho y te dedico este libro para demostrarte que la vida tiene muchos obstáculos pero mira, no imposibles, te quiero mucho.

Para la mujer más sabia y más importante de mi vida, a ti mamacita.

Para la persona que más admiro por su fortaleza y su entusiasmo de ver la vida, te amo tanto papi Luis.

A ti “Lobito”, te lo dedico con todo mi amor, se que nuestro recorrido ha sido difícil pero lo hemos vencido juntos y esto, esto también lo hicimos juntos.

Y principalmente este libro es para ti “mi princesita”, por que eres el pilar más fuerte que sostiene mi vida.

ÍNDICE

	Página
Lista de figuras, gráficas y tablas	3
I. Resumen	4
II. Ansiedad	
2.1 Definición de ansiedad	5
2.2 Clasificación de los trastornos por ansiedad	6
2.3 Control cerebral de la ansiedad	8
2.4 Sistemas de neurotransmisión implicados en la regulación de la ansiedad	10
III. Serotonina, neurotransmisor implicado en la ansiedad	
3.1 Neurona serotoninérgica	12
3.2 Distribución y metabolismo de la serotonina	12
3.3 Clasificación de los receptores serotoninérgicos	15
3.4 Características de los receptores 5-HT _{1A}	16
3.5 Tratamientos ansiolíticos	16
3.5.1 Historia del uso de tranquilizantes	16
3.6 Terapias farmacológicas de la ansiedad	17
3.7 Fluoxetina (un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina)	19
3.8 Indorrenato (un agonista total de los receptores 5-HT _{1A})	21
IV. Modelos animales de ansiedad	
4.1 Modelos animales de ansiedad en el laboratorio	23
4.1.1 Criterios de validez para modelos animales de ansiedad	25
4.2 Prueba de conducta defensiva de enterramiento	26
V. Participación de las hormonas gonadales en la ansiedad	
5.1 Ciclo menstrual y menopausia	27
5.2 Control cerebral de la ovulación	28
5.3 Biosíntesis de hormonas esteroideas	30
5.4 Desórdenes psiquiátricos asociados a la función ovárica	31
5.4.1 Síndrome premenstrual y Trastorno disfórico premenstrual	33
5.5 Tratamiento	34

VI. Ciclo estral de la rata	
6.1 Ciclo estral de la rata	37
6.2 Variaciones hormonales y niveles de ansiedad a lo largo del ciclo estral	40
VII. Justificación	42
VIII. Hipótesis y objetivos.	
8.1 Hipótesis	43
8.2 Objetivo general	43
8.3 Objetivos particulares	43
IX. Material y métodos	
9.1 Animales	44
9.2 Cirugía	44
9.3 Determinación del ciclo estral de la rata	44
9.4 Tratamientos y series experimentales	45
9.4.1 Experimento 1. Efecto del indorrenato y la fluoxetina en ratas hembra ovariectomizadas.	45
9.4.2 Experimento 2. Efecto del indorrenato y la fluoxetina en ratas hembra en diferentes fases del ciclo estral.	45
9.5 Registros conductuales	
9.5.1 Prueba de enterramiento defensivo	46
9.5.2 Actividad ambulatoria	48
9.6 Análisis estadístico	48
X. Resultados	
10.1 Efecto del número de inyecciones en la respuesta de ansiedad en ratas ovx	49
10.2 Efecto de la condición hormonal sobre la respuesta de ansiedad	49
10.3 Efecto de fluoxetina e indorrenato en ratas ovariectomizadas	50
10.4 Efecto de fluoxetina e indorrenato en ratas gonadalmente intactas	54
XI. Discusión de resultados	59
XII. Conclusiones	
XIII. Perspectivas	63
XIV. Bibliografía	64

Lista de figuras, gráficas y tablas

	Página
Figura 1. Diferentes estructuras cerebrales que regulan la ansiedad.	9
Figura 2. Esquema de las principales vías serotoninérgicas.	13
Figura 3. Síntesis del neurotransmisor serotonina.	14
Figura 4. Estructura química de la fluoxetina.	19
Figura 5. Neuronas serotoninérgicas que ilustran el mecanismo de acción de la FLX.	20
Figura 6. Estructura química del indorrenato.	22
Figura 7. Esquema cerebral y órganos sexuales femeninos que muestran la conexión entre el hipotálamo, la glándula pituitaria y los ovarios.	29
Figura 8. Biosíntesis y metabolismo de los estrógenos.	31
Figura 9. Citología vaginal de las ratas en las diferentes fases del ciclo estral.	37
Figura 10. Concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, estradiol, LH, FSH, en las diferentes fases del ciclo estral.	39
Figura 11. Caja de prueba del modelo de ansiedad “Conducta Defensiva de Enterramiento”	47
Gráfica 1. Efecto de la fluoxetina a diferentes dosis en la prueba de enterramiento defensivo.	51
Gráfica 2. Efecto del indorrenato a diferentes dosis en la prueba de enterramiento defensivo.	52
Gráfica 3. Efecto de fluoxetina a la dosis de 1.25mg/kg en la prueba de enterramiento defensivo.	55
Gráfica 4. Efecto del indorrenato a la dosis de 2.5mg/kg en la prueba de enterramiento defensivo.	56
Tabla 1. Efecto del número de administraciones en ratas ovariectomizadas evaluadas en las pruebas conductuales.	49
Tabla 2. Efecto de la condición hormonal sobre la respuesta de ansiedad.	50
Tabla 3. Efecto de los fármacos fluoxetina e indorrenato sobre el número de choques en la prueba de enterramiento defensivo con ratas ovariectomizadas.	53
Tabla 4. Efecto de fluoxetina e indorrenato sobre la actividad ambulatoria de ratas ovariectomizadas.	53
Tabla 5. Efecto de fluoxetina e indorrenato sobre el número de choques de ratas gonadalmente intactas.	57
Tabla 6. Efecto de fluoxetina e indorrenato sobre la actividad ambulatoria de ratas gonadalmente intactas.	58

I. RESUMEN

En este trabajo se analizaron los posibles cambios en el efecto ansiolítico del agonista 5-HT_{1A} indorrenato y del inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina, fluoxetina, en ratas hembra en diferentes condiciones endocrinas. Para este estudio, las ratas Wistar adultas fueron evaluadas en la prueba de conducta defensiva de enterramiento. En el primer experimento, las hembras ovariectomizadas recibieron dosis crecientes de los tratamientos: indorrenato (1.25, 2.5 y 5.0 mg/kg, i.p.) se administró de forma aguda 90 min antes de la prueba, en tanto que fluoxetina (1.25, 2.5 y 5.0 mg/kg, v.o.) se administró crónicamente por 21 días. Los resultados indican que en hembras ovariectomizadas tanto el indorrenato como la fluoxetina producen un efecto ansiolítico dosis-dependiente. En el segundo experimento, las ratas hembras gonadalmente intactas recibieron los tratamientos en dosis sub-efectivas, con el fin de determinar una posible facilitación del efecto de los ansiolíticos por la fase del ciclo estral. Para los animales tratados con indorrenato (2.5mg/kg), las ratas en fases de ciclo metaestro y diestro presentaron una disminución en el tiempo de enterramiento, y en diestro también se observó una alta reactividad al estímulo estresante. Para los animales tratados con fluoxetina no se observaron cambios en el tiempo de enterramiento; sólo se observó una alta reactividad al estímulo en las fases de metaestro y diestro. Estos cambios en la conducta de ansiedad, y en la reactividad al estímulo, no fueron asociados a alteraciones motoras. Concluimos que en las dosis utilizadas tanto indorrenato como fluoxetina, fueron más efectivos para reducir la ansiedad en ratas con bajos niveles de hormonas gonadales.

II. ANSIEDAD

2.1 DEFINICIÓN DE ANSIEDAD

En las descripciones clínicas de los estados emocionales el término estado de ánimo se refiere a un estado emocional mantenido durante semanas o más tiempo, mientras que el término afecto (o respuesta afectiva) indica un estado emocional inmediato o transitorio de una persona. El afecto responde más directamente a los estímulos externos, aunque con los trastornos del estado de ánimo importantes la gama de respuestas afectivas está delimitada (Kandel, 2000).

Las respuestas afectivas normales cumplen importantes funciones biológicas y van desde la euforia a la alegría, placer, sorpresa, ira, ansiedad, desilusión, tristeza, pena e incluso depresión. Tres de estas respuestas -euforia, depresión y ansiedad- pueden estar tan alteradas, ser tan constantes y dominantes que se convierten en una enfermedad (Kandel, 2000). Recientemente se ha establecido que la distribución de algunas enfermedades psiquiátricas en la población general no es homogénea, así que factores como la edad, el sexo o el estado endocrino contribuyen en una mayor proporción de pacientes que padecen tales trastornos. Es el caso de la influencia de la condición endocrina en la mujer, ya que se ha observado que los niveles de ansiedad y el estado de ánimo en algunas mujeres a lo largo del ciclo menstrual desaparecen uno o dos años después de la menopausia (Fernández-Guasti y cols., 2002)

Desde la época de Darwin, la ansiedad ha sido reconocida como una entidad clínica con repercusiones tanto psíquicas como corporales o somáticas. A la ansiedad se le ha considerado como la respuesta adaptativa de un sistema de alarma que prepara a un organismo a contender contra un peligro potencial. Bajo condiciones normales los síntomas de la ansiedad son imperceptibles, pero cuando es intensa, como en una situación de apremio, el individuo experimenta una sensación de inquietud y aprehensión que se acompaña de un aumento de la tensión muscular y de numerosos síntomas autonómicos entre los que destacan las palpitaciones, la sudoración, la falta de aliento o la presencia de molestias digestivas (Baldessarini, 1996; Kandel, 2000; Stahl, 2000). De la misma forma, se considera que la ansiedad puede tener un valor adaptativo cuando ocurre frente a ciertos estímulos, en ciertos niveles y durante un intervalo corto; cuando la ansiedad es excesiva o sostenida, la intensidad de los síntomas y el grado de incapacidad que estos generen al paciente en los ámbitos familiar, social y laboral permiten considerar que ésta se convierta en patológica (Gómez y cols., 2002).

Cuando la ansiedad es normal, nos alerta y protege; cuando es patológica, nos causa sufrimiento, y en algunos casos extremos nos recluye e invalida socialmente. Por otro lado, es difícil separar a la ansiedad del miedo y del estrés, pues la aprehensión y los síntomas físicos que se experimentan en ellos son similares a los que se observan en la ansiedad, y aunque ambas situaciones preparan al organismo para hacer frente a situaciones de peligro, en el caso del miedo el peligro es reconocible, mientras que en la ansiedad el peligro no es discernible (Pérez de la Mora, 2003). En cuanto al estrés, cabe mencionar que es un factor causal importante en los desórdenes afectivos como la ansiedad; por ello se ha propuesto una estrecha relación entre este trastorno y el estrés (Contreras y cols., 2002)

La manifestación esencial de un trastorno de ansiedad es el aumento del temor acompañado de manifestaciones subjetivas y objetivas. Las manifestaciones subjetivas van desde un alto grado de alerta a un miedo intenso. Las manifestaciones objetivas son aceleración de la frecuencia cardiaca, conducta de evitación y signos de inquietud, exageración de las respuestas, palpitaciones, temblor, sudor, aumento de la tensión arterial, sequedad de la boca y deseos de salir corriendo o de escapar.

El “trastorno de ansiedad” es una entidad universal que se presenta en forma inicial o aislada, aunque frecuentemente se asocia con otros trastornos de la esfera mental y somática; en la actualidad es frecuente hallar síntomas de ansiedad en aquellos pacientes que padecen como diagnóstico primario depresión y viceversa, los pacientes con un diagnóstico de trastorno de ansiedad, también presentan síntomas afectivos de diversa índole. Algunos investigadores han postulado que en muchos casos los trastornos de ansiedad evolucionan o conllevan síntomas depresivos (Baldessarini, 1996; Kandel, 2000).

2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS TRASTORNOS POR ANSIEDAD

Con la clasificación de los trastornos por ansiedad descritos por el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-IV-TR; López-Ibor Aliño, 2003), se ha podido establecer un diagnóstico más homogéneo y describir el curso natural de la enfermedad psiquiátrica, sobre todo en la población general, mediante estudios epidemiológicos.

En la clasificación del DSM-IV-TR se consideran 13 categorías diagnósticas para la descripción de los diferentes cuadros clínicos de los trastornos de ansiedad:

1. CRISIS DE ANGUSTIA (*panic attack*)
2. AGORAFOBIA (fobia a los espacios abiertos)
3. TRASTORNO DE ANGUSTIA CON AGORAFOBIA
4. TRASTORNO DE ANGUSTIA SIN AGORAFOBIA
5. FOBIA ESPECÍFICA
6. FOBIA SOCIAL
7. TRASTORNO OBSESIVO COMPULSIVO (TOC)
8. TRASTORNO POR ESTRÉS POSTRAUMÁTICO
9. TRASTORNO POR ESTRÉS AGUDO
10. TRASTORNO DE ANSIEDAD GENERALIZADA (TAG)
11. TRASTORNO DEBIDO A ENFERMEDAD MÉDICA
12. TRASTORNO DE ANSIEDAD INDUCIDO POR SUSTANCIAS
13. TRASTORNO POR ANSIEDAD NO ESPECIFICADO ANTERIORMENTE

La prevalencia a través de la vida de los trastornos específicos de ansiedad varía de acuerdo con las muestras poblacionales. Los trastornos de ansiedad más comunes son la fobia social y la específica seguida de la agorafobia. En los últimos años, el estrés postraumático, crisis de angustia y ansiedad generalizada, tiende a ser diagnosticado más frecuentemente (Heinze, 2003).

El inicio de los desórdenes de ansiedad se presenta generalmente durante la adolescencia temprana; las fobias específicas son las que se inician más tempranamente. Los trastornos de ansiedad son más frecuentes en mujeres que en hombres, con excepción de la fobia social, que suele presentarse en un porcentaje semejante en ambos sexos (Heinze, 2003).

El TAG se define como un estado de malestar caracterizado por intranquilidad, expectación aprehensiva y aumento de la vigilancia en ausencia de un estímulo desencadenante. Con frecuencia se manifiestan también reacciones autonómicas, como sudoración, taquicardia, alteraciones gastrointestinales, tensión muscular, temblor e insomnio, entre otras (Gómez y cols., 2002); el DSM IV indica que esta sintomatología deberá persistir por un período mínimo de seis meses. Este trastorno, como más adelante veremos, es simulado en animales en la prueba de enterramiento defensivo, el modelo usado como herramienta en el presente estudio.

2.3 CONTROL CEREBRAL DE LA ANSIEDAD

Los estudios muestran que no existe una región única encargada de la integración de la ansiedad. Existen por el contrario, numerosos centros nerviosos que participan en su producción y modulación. Varias regiones han sido implicadas en el control de la ansiedad, que corresponden en su mayor parte al llamado sistema límbico: entre ellas destacan diversas porciones de la corteza cerebral; el septum lateral, localizado en la parte medial de los hemisferios cerebrales; y la amígdala, una región situada a ambos lados de la base del cerebro. Destacan, así mismo, el hipocampo, estructura involucrada en la memoria; algunas porciones del hipotálamo, porción neural cercana a la amígdala y que constituye el “cerebro” del sistema nervioso autónomo, pues modula muchas de nuestras actividades viscerales y hormonales, así como la sustancia gris periacueductal. Finalmente, el núcleo del rafé dorsal y el *locus coeruleus* localizados ambos en el tallo cerebral, y que constituyen los conjuntos de somas de neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas, respectivamente (Pérez de la Mora, 2003).

Sin embargo, las evidencias experimentales acumuladas en los últimos años indican que la amígdala, un pequeño núcleo localizado en las profundidades del lóbulo temporal, es la mayor involucrada en el origen de los trastornos de ansiedad, esto se debió a que la destrucción de la amígdala producía disminución de la ansiedad (Davis-Michael, 1992). Por ejemplo en monos, la extirpación de las dos amígdalas, el hipocampo y algunas áreas corticales vecinas, les produjo el síndrome de Kluver-Bucy, el cual consiste en que los animales quienes lo padecen se acercan a todo tipo de objetos, inanimados o no, sin desconfianza, examinándolos con la boca y no con las manos, sin importar que estos sean comida, materias fecales o serpientes. Además, los monos dejan de mostrar respuestas emocionales motoras o vocales típicamente asociadas a estímulos que producen miedo o enojo. En experimentos con ratas, se observó que la lesión de la amígdala disminuía la ansiedad en el paradigma “Prueba defensiva de enterramiento” (Treit y cols., 1993). Por otro lado, en los humanos se ha mostrado mediante el uso de resonancia magnética funcional y la tomografía por emisión de positrones, que algunas áreas del cerebro como la amígdala o diversas porciones de la corteza límbica se activan cuando los sujetos son sometidos a distintas situaciones que les provoca ansiedad (Pérez de la Mora, 2003). Además, en el ser humano una estimulación eléctrica a este núcleo produce sentimientos de miedo y aprehensión, y en gatos induce respuesta de miedo y furia (Corsi, 2003). Este pequeño núcleo consta a su vez de varios núcleos o grupos de células que están recíprocamente conectados, y tienen conexiones estratégicas con las estructuras que participan en la respuesta emocional, como el hipotálamo, la formación hipocámpica, la neocorteza y el tálamo.

En la Figura 1 se ilustra de manera general el circuito de la ansiedad, primero un estímulo emocional es captado por los órganos de los sentidos y algunos receptores que tenemos en todo el cuerpo, esta información es enviada al tálamo (estructura cerebral que sirve de relevo), que envía la información a estructuras superiores como la corteza cerebral (donde se hace conciencia de la información), una vez procesada y codificada la información es enviada a la amígdala principalmente al núcleo central (una porción de ella), de ahí ordena a distintos núcleos autonómicos que son los responsables de las respuestas efectoras como son: potenciación de reflejos, activación simpática, activación parasimpática, etc., (Davis-Michael, 2002; Pérez de la Mora, 2003).

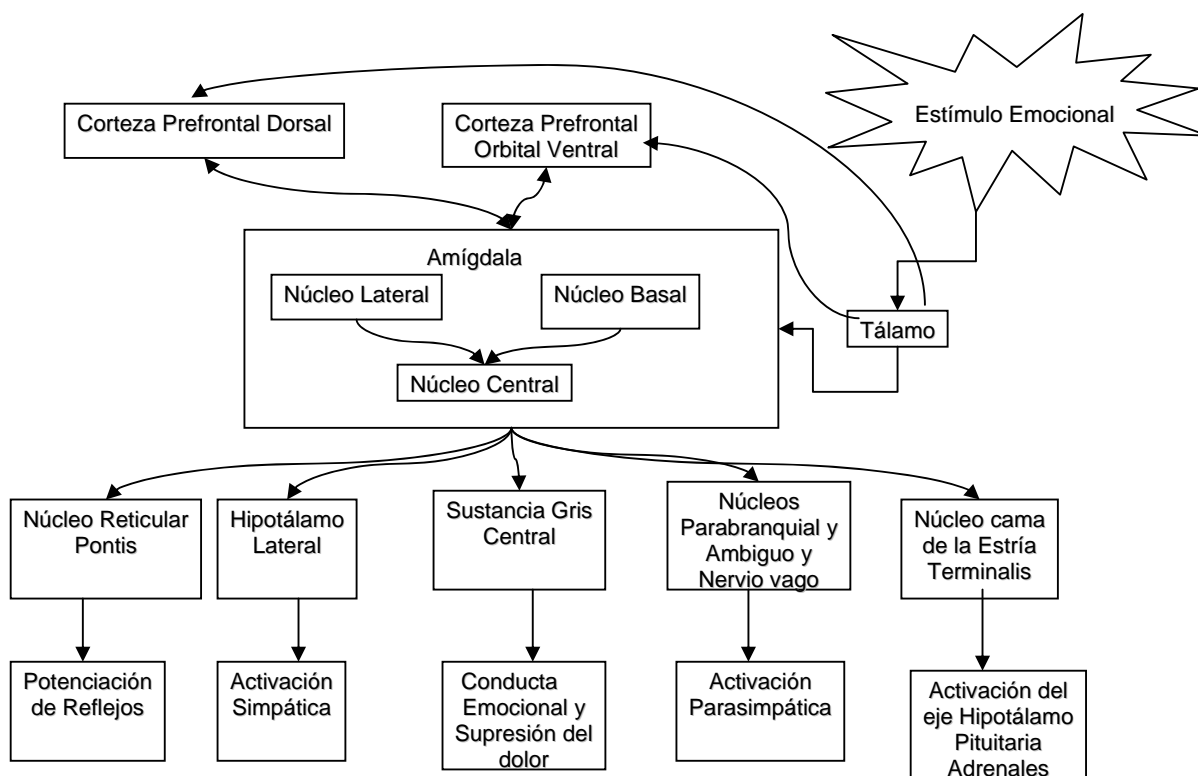


Figura 1. Modelo esquemático de la participación de diferentes estructuras cerebrales en la ansiedad (Tomado de Pérez de la Mora, 2003).

Cuadro 1. Conexiones de la amígdala con otras áreas y efectos fisiológicos y conductuales de su estimulación.

	SITIO DE ACCIÓN	EFEECTO FISIOLÓGICO	CONDUCTA
	Hipotálamo lateral	→ Activación simpática	→ Taquicardia Palidez Dilatación pupilar Hipertensión
	Hipotálamo (n. paraventricular)	→ Liberación de adreno-cortico-tropina	→ Respuesta de estrés
	Área ventral tegmental	→ Liberación de dopamina	→ Actividad eléctrica rápida
	Locus Coeruleus	→ Liberación de norepinefrina	
AMÍGDALA Núcleo Central	Núcleo latero-dorsal tegmental	→ Liberación de acetilcolina	
	Núcleo motor dorsal del vago	→ Activación parasimpática	→ Úlceras, micción, bradicardia
	Núcleo parabranchial	→ Aumento respiración	→ Opresión respiratoria
	Núcleo reticularis pontis caudalis	→ Reflejos aumentados	→ Sobresaltos
	Sustancia gris central	→ "Congelamiento"	→ Suspensión conducta
	Núcleos facial y trigémino	→ Muestra de dientes	→ Cara de miedo
	Corteza orbitofrontal	→	Experiencia subjetiva

Modificada de Davis-Michael, 2002.

En el Cuadro 1, se describe la relación entre los diversos sitios anatómicos cerebrales, los cambios fisiológicos y la generación de respuestas que corresponden a ansiedad o miedo. Esto es, a partir del núcleo central de la amígdala se envía información a las diferentes regiones cerebrales, estas regiones pueden ser estimuladas y a su vez, provocan efectos fisiológicos que se manifiestan mediante la respuesta de una conducta (Davis-Michael, 2002; Charney y Drevets, 2002).

2.4 SISTEMAS DE NEUROTRANSMISIÓN IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LA ANSIEDAD

Todas las áreas cerebrales antes mencionadas, involucran toda una serie de sistemas de neurotransmisión, de las cuales algunas están involucradas en la regulación de la ansiedad.

Por ejemplo, el sistema GABAérgico que utiliza al neurotransmisor inhibitorio más abundante en el sistema nervioso, como es el GABA (ácido gamma-aminobutírico), es el mayor regulador de muchas funciones del SNC y la mayoría de las neuronas inhibitorias en el encéfalo y la médula espinal lo utilizan como neurotransmisor.

El sistema GABAérgico tiene dos tipos de receptores que son: los receptores GABA_A que es un complejo pentamérico formado por subunidades de glicoproteínas α , β , γ , y δ , la cuales están acopladas a canales de cloro, y los receptores GABA_B, que están asociados con el ión calcio (Musselman y cols., 1998; Stahl, 2000; Rupprecht, 2003).

El receptor GABA_A es el mayor implicado en trastornos afectivos como son depresión y ansiedad. Esta afirmación fue dada por el hecho de que fármacos como las benzodiazepinas poseían una afinidad por el receptor GABA_A, por ejemplo el diazepam, representante típico de las benzodiazepinas, se une a receptores específicos localizados sobre los receptores GABA_A, aumentando la eficacia del GABA como neurotransmisor en las sinapsis que participan en la modulación de la ansiedad (Haefely, 1989). Una variedad de drogas actúan a través del receptor GABA_A y pueden ser: agonistas para sitios de unión de GABA como muscimol, benzodiazepinas, barbituratos, esteroides neuroactivos (progesterona y otras progestinas), alcohol y anestésicos (Rupprecht, 2003).

En 1985 Majewska y cols., descubrieron que la progesterona y otras progestinas modulan la función del receptor GABA_A, un hecho que dio la pauta para la investigación de la participación de las hormonas esteroides en la regulación de la depresión y la ansiedad.

Otro sistema de neurotransmisión implicado en la regulación de la ansiedad ha sido el noradrenérgico, al observar que la estimulación del *locus coeruleus* (estructura cerebral que contiene la mayor parte de los somas de neuronas noradrenérgicas) en monos produce una reacción de ansiedad cuando se expone al animal a un estímulo amenazante, por el contrario, al eliminar esta estructura disminuyen las reacciones naturales de miedo y de defensa (Redmond y Huang, 1979). Además, en estudios que se han realizado con antidepresivos tricíclicos como la desipramina (en tratamiento crónico) que bloquea la recaptura de noradrenalina y produce un aumento temporal de su concentración en el espacio sináptico, provoca una disminución en la actividad ansiogénica de las neurona noradrenérgica (Fernández-Guasti y cols., 1999).

Estudios más recientes indican que el sistema serotoninérgico es uno de lo más implicados en la regulación de los desórdenes de ansiedad ya que se encontró en algunos individuos que padecían de enfermedades psiquiátricas tienen alteraciones del sistema serotoninérgico (Baldessarini, 1996 y Stahl, 2000). Esto se propuso debido a que se encontraron disminuidos los niveles de triptófano, el precursor de serotonina en fluido cerebroespinal, así como de serotonina y su metabolito principal 5-HIAA en algunos pacientes deprimidos (Janowski y cols., 1996; Musselman y cols., 1998).

III. SEROTONINA, NEUROTRANSMISOR IMPLICADO EN LA ANSIEDAD

3.1 NEURONA SEROTONÉRGICA

El sistema nervioso de los mamíferos se divide en dos: el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El primero se halla dentro del cráneo y del canal que se localiza dentro de la columna vertebral. El segundo se encuentra fuera de ellos, y es el encargado de hacer llegar a músculos, corazón, glándulas y los músculos de las vísceras las instrucciones que se procesan en el SNC. Dentro del SNC, las células nerviosas se intercomunican ampliamente a través de fibras que provienen de sus cuerpos celulares y que hacen contacto (sinapsis) con neuronas localizadas a su alrededor o en regiones cerebrales distintas.

En el encéfalo humano la mayoría de las neuronas se comunican entre sí liberando mensajeros químicos denominados neurotransmisores. El ciclo de utilidad de todas las moléculas neurotransmisoras es similar: 1) son sintetizadas y empaquetadas en vesículas en la célula presináptica; 2) son liberadas desde la célula presináptica y se unen a los receptores sobre una o más células postsinápticas; 3) una vez liberadas en la hendidura sináptica, son rápidamente eliminadas o degradadas; 4) la acción final de los neurotransmisores, dependiendo de las características de la acción de cada uno, será simplemente hacer que una neurona se excite o se inhiba, y garantizar de que tales acciones ocurran más o menos rápidamente y persistan por un mayor o menor tiempo (Purves y cols., 2001).

3.2 DISTRIBUCIÓN Y METABOLISMO DE LA SEROTONINA

La serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT) es una indolamina, se encuentra distribuida ampliamente en plantas y animales en grandes concentraciones en las células enterocromafines de todo el tubo digestivo, las plaquetas y regiones específicas del SNC. A parte de ser un neurotransmisor del SNC tiene efecto en diversos tipos de músculo liso, fomenta la agregación plaquetaria, esta involucrada en acciones muy diversas como son la secreción del ácido gástrico, el control de la presión sanguínea, en funciones cerebrales como el apetito, el dolor, la conducta sexual, la secreción de hormonas, la regulación de la temperatura, la agresión y en ciertos estados del ánimo (Janowsky y cols., 1996; Jensvold y cols., 1996; Sanders y Mayer, 1996).

Como se puede ver en la Figura 2, por un lado el cerebro humano y por otro el cerebro de la rata, se muestran los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas que se encuentran en los núcleos dorsal y medial del rafe en el tallo cerebral y constituyen el principal reservorio de 5-HT, además, se proyectan a porciones del hipotálamo, hipocampo, amígdala, tálamo y algunas áreas de la corteza cerebral. También, los cuerpos celulares ubicados en el tallo cerebral proyectan líneas descendentes que terminan en diversos puntos de la medula espinal (Kandel, 2000; Purves y cols., 2001).

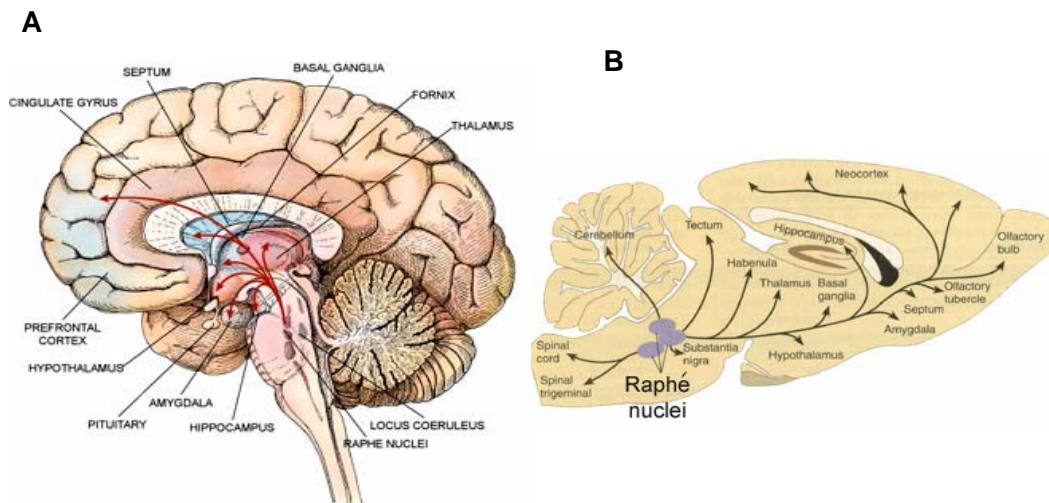


Figura 2. Esquema de las principales vías serotoninérgicas. A) cerebro humano, visión lateral del encéfalo que muestra los núcleos rostrales del rafe que se proyectan (indicado con flechas) a un gran número de estructuras en la corteza cerebral. B) cerebro de la rata, proyecciones serotoninérgicas hacia las diferentes estructuras cerebrales. Tomado de www.jaist.ac.jp/.../Active_Perception.html

La serotonina se sintetiza por una vía de dos etapas a partir del aminoácido esencial triptófano que se consume en la dieta, ambas sustancias pertenecen a un grupo de compuestos aromáticos llamados indoles, con un anillo de cinco elementos que contiene nitrógeno unido a un anillo benceno. Para sintetizar serotonina, ver Figura 3, se necesita de dos enzimas, triptófano-5-hidroxilasa y 5-hidroxitriptófano descarboxilasa (Sanders y Mayer, 1996).

En el primer paso, el triptófano es captado en las neuronas por un transportador de la membrana plasmática e hidroxilado en una reacción catalizada por la enzima triptófano-5-hidroxilasa, esta reacción es el paso limitante de la velocidad para la síntesis de 5-HT.

El catabolismo de la serotonina sigue dos caminos diferentes en el cerebro y en la glándula pineal. En esta última, la serotonina es transformada a melatonina, mientras que en el cerebro la serotonina es catabolizada por oxidación por medio de la monoamino oxidasa (MAO-A) y luego por acción de la aldehído deshidrogenasa para producir ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), que es el principal metabolito de la serotonina (Barnes y Sharp, 1999).

Existen tres factores que controlan los niveles de serotonina extracelular que son: autorreceptores somatodendríticos, autorreceptores terminales y el transportador de serotonina. En el soma y las dendritas de las neuronas de 5-HT, la activación de los autorreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} disminuye el disparo de las neuronas de 5-HT y la liberación de serotonina en las áreas terminales. La activación de autorreceptores terminales (r5-HT_{1B} en la rata) atenúa la liberación de 5-HT en respuesta a cada potencial de acción (Maswood y cols., 1999). Por otro lado, el transportador de 5-HT es responsable de la eliminación de 5-HT extracelular mediante el mecanismo de recaptura; si se bloquea el transportador se esperaría aumento de 5-HT.

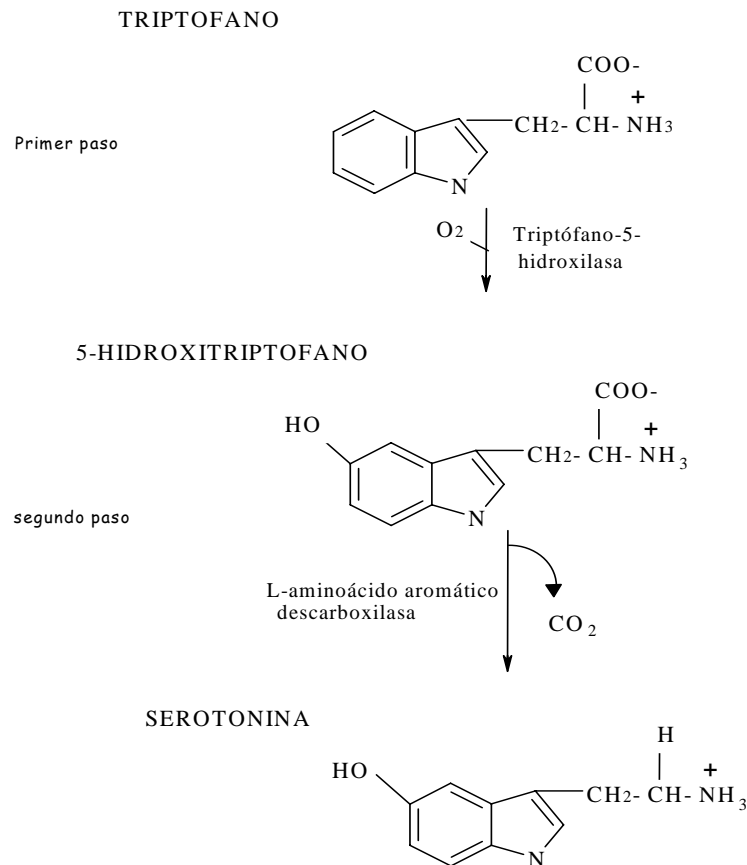


Figura 3. Síntesis del neurotransmisor serotonina. Tomada de Purves y cols., 2001.

3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS RECEPTORES SEROTONÉRGICOS

Como podemos ver en el Cuadro 2, los receptores serotoninérgicos se clasifican al menos en siete tipos principales, esta clasificación está basada en tres propiedades principalmente, primero se basan en las propiedades farmacológicas, segundo, en el mecanismo de transducción y en tercero se basan en sus características estructurales (Mansour y cols., 1998). Las familias de receptores 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT_{4,7} son miembros de la súper familia de receptores acoplados a proteína G. El receptor 5-HT₃, es un canal de iones de compuerta de ligando que da paso a Na⁺ y K⁺. Por otro lado, las subfamilias de receptores 5-HT_{5,6 y 7} fueron clonados, sin embargo, no se identificaron sus funciones y no se han reconocido aún como receptores verdaderos. Algunos de los receptores disminuyen la adenilciclase, otros la aumentan, otros receptores están vinculados al recambio del fosfatidilinosítido.

De todos los receptores mostrados, los 5-HT_{1A} son los que están implicados en la fisiopatología de desórdenes afectivos como son ansiedad y depresión, de ahí su importancia de estudio (Musselman y cols., 1998; Halbreich y cols., 2006).

Cuadro 2. Características principales de los de receptores de serotonina.

<i>Subtipo</i>	<i>Señal de transducción</i>	<i>Localización</i>	<i>Función</i>	<i>Familias Estructurales</i>
5-HT _{1A}	Inhibición de la AC	Núcleos del rafe Hipocampo	Autorreceptor	Acoplado a proteína G
5-HT _{1A}	Inhibición de la AC	Subículo		
5-HT _{1B}	Inhibición de la AC	Sustancia negra Vasos sanguíneos craneales	Autorreceptor Vasoconstricción	Acoplado a proteína G Acoplado a proteína G
5-HT _{1D}	Inhibición de la AC	Corteza Cuerpo estriado	--	Acoplado a proteína G
5-HT _{1F}	Inhibición de la AC	Encéfalo y Periferia	--	Acoplado a proteína G
5-HT _{2A}	Activación de la PLC	Plaquetas	Agregación de plaquetas	
		Músculo liso	Contracción	Acoplado a proteína G
		Corteza cerebral	Excitación neural	
5-HT _{2B}	Activación de la PLC	Fondo gástrico	Contracción	Acoplado a proteína G
5-HT _{2C}	Activación de la PLC	Plexo coroideo	--	Acoplado a proteína G
5-HT ₃	Canal de iones operado por el ligando	Nervios periféricos Área postrema	Excitación neural	Canal de iones de compuerta
5-HT ₄	Activación de la AC	Hipocampo Tubo digestivo	Excitación neural	Acoplado a proteína G
5-HT _{5A}	Se ignora	Hipocampo	Se ignora	Acoplado a proteína G
5-HT _{5B}	Se ignora			
5-HT ₆	Activación de la AC	Cuerpo estriado	Se ignora	Acoplado a proteína G
5-HT ₇	Activación de la AC	Hipotálamo Intestino	Se ignora	Acoplado a proteína G

Abreviaturas: AC, adenilciclase; PLC, fosfolipasa C. Modificado de Baldessarini, 1996.

3.4 CARACTERÍSTICAS DE LOS RECEPTORES 5-HT₁

Los receptores de la familia 5-HT₁ tienen alta homología en la secuencia de amino ácidos y todos están acoplados negativamente a la adenilatociclasa vía proteína G. El receptor de la rata 5-HT_{1A} (422 amino ácidos) tiene 89% de homología con el receptor humano (Barnes y Sharp, 1999).

Los receptores 5-HT_{1A} se encuentran ubicados tanto en la pre- como en la post-sinápsis. Presinápticamente se encuentran en los somas y dendritas de las neuronas de los núcleos dorsal y medial del rafe, la función de estos autorreceptores es el control de la neurotransmisión serotoninérgica a través de un mecanismo de retroalimentación negativa, además, se localizan postsinápticamente en diversas áreas cerebrales como son el hipocampo, el septum, la amígdala, el hipotálamo y la corteza frontal (Mansour y cols. 1998).

3.5 TRATAMIENTOS ANSIOLÍTICOS

3.5.1 Historia del uso de los tranquilizantes

Durante el transcurso de los años el hombre ha buscado nuevos fármacos que modifiquen los efectos del estrés, las sensaciones de malestar, tensión, ansiedad y disforia, siendo el etanol el primer sedante encontrado. A principio del siglo XIX empezaron a aplicarse como sedantes en el ejercicio médico sales de bromuro y compuestos con efectos semejantes a los del alcohol, entre ellos el paraldehído e hidrato de cloral. A principio del siglo XX entraron en uso los barbitúricos como potentes agentes ansiolíticos. Encontraron que los barbitúricos causaban tolerancia, dependencia física y reacciones potencialmente mortales durante la abstinencia, estimulando así la búsqueda de nuevos agentes químicos más seguros. Un informe sobre el meprobamato publicado por Berger en 1954, marcó el principio de las investigaciones de los sedantes modernos con propiedades útiles contra la ansiedad, pero se hizo evidente que estos compuestos también poseían características altamente indeseables (Baldessarini, 1996). Esto abrió el camino para el descubrimiento del clordiazepóxido a finales del decenio de 1950, y para la síntesis de cerca de 3,000 benzodiazepinas, de las cuales casi 50 están actualmente en aplicación clínica; sin embargo, también están muy lejos de ser los ansiolíticos ideales, ya que estos compuestos presentan un perfil farmacológico muy extenso, es decir, son ansiolíticos, sedantes, hipnogénicos, relajantes musculares y anticonvulsivantes. Además el uso continuo de las benzodiazepinas también provoca efectos de tolerancia y dependencia (Yonkers y Ellison, 1996).

En 1962 fueron publicados dos reportes donde se informaba de la efectividad de los antidepresivos en el tratamiento de los trastornos de ansiedad. En 1964, D.F. Klein reportó que la imipramina, un antidepresivo tricíclico, era efectiva en el tratamiento de ataques de pánico pero no de la ansiedad. Estudios adicionales usando inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs) en pacientes ansiosos junto con la imipramina resultaron efectivos para tratar la ansiedad, en especial aquella con ataque de pánico (Nutt y Glue, 1991). Los IMAOs, por ejemplo, fenelzina, han sido usados para el tratamiento de desórdenes de ansiedad por más de 30 años y pueden ser más efectivos que los antidepresivos tricíclicos en desorden de pánico. Como veremos más adelante, con estos hallazgos hoy en día se propone el uso de fármacos antidepresivos para tratar algunos desordenes de ansiedad.

3.6 TERAPIAS FARMACOLÓGICAS PARA LA ANSIEDAD

El desorden de ansiedad es la clase más prevalente de desórdenes psiquiátricos ya que afecta del 10-30% de la población en general, afectando a 1 de cada 10 individuos, siendo las mujeres quienes desarrollan más desórdenes de ansiedad que los hombres (Yonkers y Ellison, 1996; Kandel, 2000; Purves y cols., 2001). Con estas bases, se han desarrollado nuevas terapéuticas para su tratamiento considerando varios aspectos como son: dosis, interacción con otros fármacos (especialmente para pacientes que reciben tratamiento de restitución hormonal), efecto del ciclo menstrual y modificaciones requeridas durante el embarazo. Para lo cual se debe seguir lo siguiente:

- Ajustar en un principio la dosis medica de acuerdo a la talla y peso corporal.
- Evaluar los cambios de los niveles del fármaco, así como su eficacia a través del ciclo menstrual.
- Monitorear el potencial de la interacción del fármaco con anticonceptivos orales.
- Aconsejar al paciente observar los efectos del fármaco en caso de un embarazo accidental.

El tratamiento farmacológico actual para trastornos de ansiedad, incluyendo desorden de pánico con o sin agorafobia y trastorno de ansiedad generalizada (TAG), consisten, ante todo, en agentes sedantes y ansiolíticos del grupo de las benzodiazepinas, como el clordiazepóxido (Librium) y el diazepam (Valium). Muchos pacientes particularmente aquellos con desórdenes de estrés posttraumáticos, pánico y TOC requieren de dos tratamientos: tanto de antidepresivos como de un benzodiazepínico, cuyo efecto ansiolítico es muy rápido. Estos fármacos son considerados actualmente como de “segunda elección”. Muchos clínicos se muestran preocupados al utilizar cualquier benzodiazepina por su dependencia potencial, sobre todo cuando se prescribe en dosis elevadas y por un periodo largo (Heinze, 2003). El mecanismo de acción de las benzodiazepinas consiste en la unión del fármaco con receptores GABA tipo A, ubicados en la membrana celular, que son esenciales para efectuar la neurotransmisión del ácido gamma-aminobutírico (GABA). Este es un neurotransmisor inhibitorio, que controla el flujo de iones cloro a través del canal asociado a estos receptores, facilitando la hiperpolarización (Yonkers y Ellison, 1996; Purves y cols., 2001).

Otro grupo de fármacos son los agonistas de los receptores 5-HT_{1A} como la buspirona, que en 1986 la Food and Drug Administration (FDA) aprobó sus efectos ansiolíticos para tratar el TAG, en la clínica este fármaco ha demostrado efectos positivos en el tratamiento de la ansiedad ya que no parece producir tolerancia ni reacciones de abstinencia (Tallman y cols., 2002).

Los reportes clínicos señalan que los antidepresivos disminuyen la ansiedad en pacientes con desórdenes de pánico, con TAG y TOC (Yonkers y Ellison, 1996). Al inicio del tratamiento con antidepresivos se produce un estado ansiogénico que posteriormente se abate con la administración prolongada del medicamento (Nutt y Glue, 1991; Stahl, 1998).

Debido a su baja incidencia de efectos adversos como son tolerancia, dependencia o efectos sedantes, un nuevo grupo de fármacos antidepresivos han sido empleados para el tratamiento de los diferentes síndromes de ansiedad como pánico, TOC, fobia social, TAG y estos son los “inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina” (ISRS) como la fluoxetina, la paroxetina, venlafaxina y la sertralina. Estas sustancias son los antidepresivos más usados y actúan inhibiendo selectivamente la captación del neurotransmisor serotonina (Jensvold y cols., 1996).

Entre los fármacos que aún están en estudio para el tratamiento de la ansiedad, son los agonistas serotoninérgicos 5-HT_{1A} como la ipsapirona, la gepirona, el 8-OH-DPAT y el indorrenato, éstos

han sido estudiados en diversos modelos animales y se han comprobado que poseen fuertes propiedades ansiolíticas (Handley, 1991; Fernández-Guasti y cols., 1991; López-Rubalcava, 1994).

3.7 FLUOXETINA (UN INHIBIDOR SELECTIVO DE LA RECAPTURA DE SEROTONINA)

La fluoxetina (Prozac, Elli-Lilly), Figura 4, es un fármaco antidepresivo que se empezó a utilizar en la clínica a finales de los 80's y principio de los 90's (Tallman y cols., 2002; Stahl, 1998), tiene una vida media de 4-6 días, su metabolito activo (norfluoxetina) tiene una vida media de 4-16 días. Al inicio del tratamiento, fluoxetina puede aumentar la ansiedad y agitación, pero se abate con una administración prolongada.

Se ha demostrado que fluoxetina es eficaz en trastornos de pánico, trastorno obsesivo compulsivo y bulimia con resultados favorables en fobia social, trastorno de estrés post-traumático, desorden disfórico premenstrual, migraña y distimia (Stahl, 2000).

La presentación de este fármaco puede ser en forma líquida o en cápsulas de 10 mg ó 20 mg, Esta reportado que el tratamiento puede empezarse con una dosis inicial baja de 5-10 mg/día. Para pacientes quienes son sensibles pero requieren altas dosis, pueden aumentarse 5 mg/día cada semana hasta llegar a una dosis diaria de 20 mg/día (Vademecum, 2001;Yonkers y Ellison, 1996).

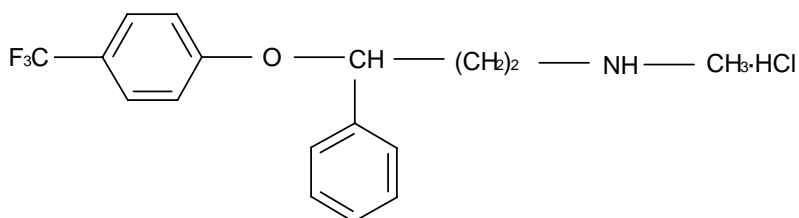


Figura 4. Estructura química de la Fluoxetina, un inhibidor selectivo de la recaptura de 5-HT.

Los efectos colaterales provocados por el uso prolongado de fluoxetina son: disfunción sexual incluyendo dificultad orgásmica y disminución de la libido (Jensvold y cols., 1996; Vega-Matuszczyk y cols., 1998). Se han reportado casos de mujeres anorgásmicas después de 5 semanas de tratamiento con fluoxetina 20 mg/día en pacientes con TOC y depresión mayor, y después de pocos meses de tratamiento, para pacientes con bulimia con una dosis de 40 a 60 mg/día de

fluoxetina les produce anorgasmia (Jensvold y cols, 1996). A otro grupo de mujeres que padecían el trastorno disfórico premenstrual se les administró de igual manera la fluoxetina, 20 mg/día, y se encontró que 15% de esas mujeres presentaron irregularidades en la ciclicidad menstrual (Steiner y cols., 1997), sin embargo, en experimentos realizados en ratas hembra, una administración diaria de fluoxetina, 10 mg/día, por tres ciclos estrales consecutivos no alteró la ciclicidad del animal (Vega-Matuszczyk y cols., 1998; Van de Kar y cols., 2002).

El mecanismo de acción por el cual actúan los ISRS se ilustra en la Figura 5, al inicio del tratamiento los ISRS bloquean al transportador de 5-HT inhibiendo la recaptura del neurotransmisor y aumentando los niveles de 5-HT en la región somatodendrítica de las neuronas (recuadro A). Después de un tiempo, el aumento sostenido de 5-HT provoca la desensibilización de los receptores somatodendríticos 5-HT_{1A} y de los autorreceptores 5-HT_{1B} facilitando la liberación de 5-HT en el espacio sináptico (recuadro B); finalmente el aumento de los niveles de 5-HT en el espacio sináptico (recuadro C) lleva a cambios en los receptores post-sinápticos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} (Stahl, 2000; Van de Kar y cols., 2002).

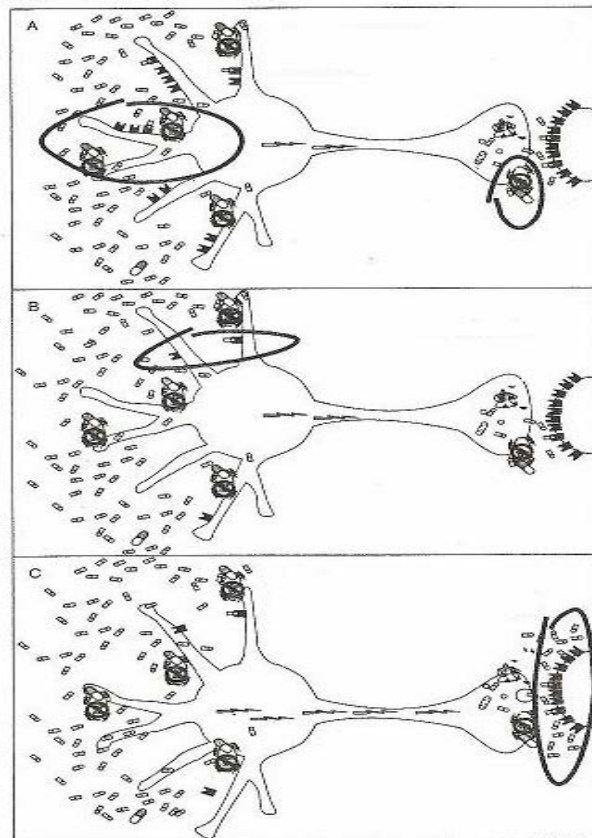


Figura 5. Neuronas serotonérgicas que ilustran el mecanismo de acción de la fluoxetina (ISRS). Tomada de Stahl, 1998.

3.8 INDORRENATO (UN AGONISTA TOTAL DE LOS RECEPTORES 5-HT_{1A})

El indorrenato o clorhidrato de 5-Metoxitriptamina, β -metil carboxilato, ver Figura 6, es un análogo de la 5-Hidroxitriptamina que se absorbe de la vía oral y pasa la barrera hematoencefálica. Este compuesto tiene efecto antihipertensivo central, ya que al actuar sobre el centro vasomotor disminuye los impulsos simpáticos eferentes (Castillo y cols., 1994). Este efecto parece ser debido a una estimulación de los receptores 5-HT_{1A} en función de la gran afinidad que posee por las membranas de hipocampo y por su capacidad de desplazar de dichos sitios a la 5-HT y a la ipsapirona radiactivas (Hong y cols., 1989).

El indorrenato disminuye la respuesta presora inducida por la oclusión bilateral de las carótidas, así como el aumento de noradrenalina plasmática observado después de dicha maniobra. Por otra parte, produce hipotensión cuando es administrado intracerebroventricular o en la arteria vertebral izquierda del gato, a dosis que no tiene efecto cuando se administra por vía endovenosa. La administración oral de indorrenato produjo efectos antihipertensivos en diversos modelos de hipertensión: ratas hipertensas espontáneas, ratas hipertensas renales y en perros hipertensos renales. El efecto antihipertensivo se observó tanto en forma aguda, como durante tratamiento crónico (cuatro semanas en perros hipertensos renales). La administración de indorrenato a dosis de 2.5 o 5.0 mg/día disminuyó la presión arterial de pacientes con hipertensión arterial ligera o moderada. Los efectos colaterales fueron de corta duración (menos de dos horas), mientras que la recuperación del efecto antihipertensivo fue incompleta, aún después de 9 hrs. de su administración. En ratas, la administración de indorrenato redujo la conducta de enterramiento y aumentó el número de lengüetazos en la prueba de Vogel (ambos cambios conductuales reflejan un efecto ansiolítico). Sin embargo, la potencia del efecto ansiolítico del indorrenato es menor que la de otros agonista 5-HT_{1A} como el 8-OH-DPAT, la bupiriona y la ipsapirona (Hong y cols., 1989).

El indorrenato posee una afinidad alta por los receptores 5-HT_{1A} y en este subtipo de receptores actúa como agonista. A diferencia de otros agonistas 5-HT_{1A}, el indorrenato no muestra afinidad por los receptores alfa₁- o alfa₂- adrenérgicos y hasta la fecha no se ha reportado que este compuesto tenga actividad adrenérgica. Sin embargo, este fármaco parece interactuar con receptores 5-HT₂ ya que algunos efectos vasculares pueden bloquearse con antagonistas 5-HT₂ (Hong y cols. 1989).

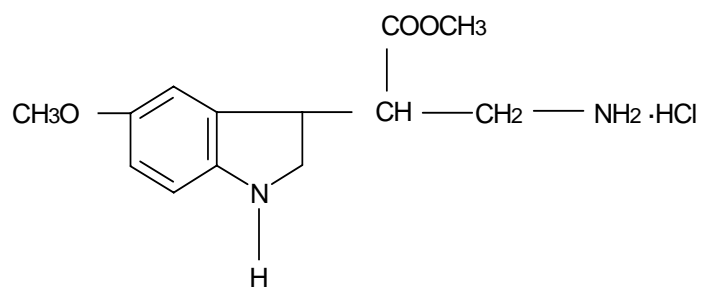


Figura 6. Estructura química del Indorrenato, un agonista 5-HT_{1A}.

IV. MODELOS ANIMALES DE ANSIEDAD

4.1 MODELOS ANIMALES DE ANSIEDAD EN EL LABORATORIO

A través de los años el uso de modelos animales ha sido de gran importancia para el estudio de nuevos psicofármacos, el efecto de éstos sobre la conducta animal tiene tres objetivos principales: 1) dar información sobre el mecanismo de acción de los compuestos químicos; 2) permite analizar procesos conductuales a través del uso de fármacos que alteran la conducta y 3) permite desarrollar nuevos fármacos que potencialmente puedan ser utilizados para el tratamiento de trastornos mentales en los seres humanos (Riezen y Leonard, 1991).

Como ya se había mencionado la ansiedad es una reacción ante una amenaza o algún peligro, que involucra alteraciones neuroquímicas que alteran el funcionamiento de diversas estructuras cerebrales. Por otra parte, en los animales las alteraciones que semejan a la ansiedad pueden acompañarse de cambios de conducta que tienden a ir hacia los extremos, como por ejemplo, un aumento de la actividad locomotriz, y en otros casos es frecuente observar una inmovilidad que se acerca al “congelamiento conductual”. A menudo ocurre la supresión de la conducta operante, de la actividad sexual y de la interacción social. Las respuestas endocrinas y autonómicas van desde el aumento de la frecuencia cardíaca y de la temperatura corporal, hasta el desarrollo de úlceras gástricas. Todo ello se acompaña de la elevación de las concentraciones de sustancias como la adrenalina, la noradrenalina y el cortisol en la sangre, entre otros cambios metabólicos. Estas analogías son empleadas para estudiar los mecanismos neurofisiológicos asociados y las acciones ansiolíticas de algunos fármacos (Contreras y cols. 2002)

El estudio de las bases neurales de la ansiedad empleando modelos animales de experimentación, aporta información acerca de los mecanismos naturales que se dan durante la expresión de la ansiedad como un mecanismo biológico de protección para mantener la integridad de los animales. Asimismo, también aporta información acerca del desarrollo patológico de la ansiedad. En estos modelos, es posible inferir el estado de ánimo de los animales mediante el análisis de su conducta en diferentes situaciones experimentales.

Se han desarrollado alrededor de 30 paradigmas de conducta animal para estudiar ciertos aspectos de la ansiedad. La mayoría de estos modelos involucran la exposición de los animales a estímulos externos e internos que, se asume, pueden causar ansiedad (Gómez y cols., 2002; Molina y Téllez, 2002).

Los modelos animales de ansiedad se han dividido en dos clases: los modelos condicionados y los modelos no condicionados.

Modelos condicionados.

Se les conoce también como modelos de castigo o conflicto debido a que los animales se encuentran entre dos motivaciones opuestas: una motivación positiva que satisface una necesidad dominante (beber o comer) y una motivación negativa que es la posibilidad de recibir, durante la consumación de dicha conducta, un estímulo adverso reconocido como tal durante el aprendizaje (Gómez y cols., 2002).

El castigo consiste en un estímulo aversivo, generalmente un choque eléctrico leve, aplicado a un animal entrenado o condicionado para emitir una respuesta determinada. En animales sin tratamiento, el miedo provoca que la conducta (beber o comer) se abata, y al aplicar un tratamiento ansiolítico, la frecuencia de la conducta se aumenta. Un ejemplo de este tipo de modelo son las pruebas de conflicto de Vogel y Geller-Seifter. Los modelos condicionados presentan limitaciones en cuanto a su uso. Por un lado, los animales son expuestos a estímulos no habituales, por lo que es necesario un entrenamiento previo con el fin de que el animal aprenda a emitir la respuesta deseada. Por otro lado, los fármacos probados en estos modelos son administrados en forma aguda, a diferencia de lo que ocurre en la clínica, donde generalmente son crónicos tanto el padecimiento como el tratamiento (Lister, 1991; Molina y Téllez, 2002).

Modelos no condicionados.

Estos modelos se basan en las respuestas naturales de los animales emitidas frente a estímulos potencialmente peligrosos, que en la naturaleza son los depredadores, algunos objetos extraños o a individuos pertenecientes a la misma especie. En estas pruebas algunos ejemplos de estímulos utilizados son: los choques eléctricos de baja intensidad, la luz brillante, los espacios abiertos, la presencia de un desconocido o la separación de las crías de su madre. En estos modelos la administración de ansiolíticos revierte las conductas que se consideran un reflejo del estado de miedo de los animales (Treit, 1994). Los modelos no condicionados, aunque aparentemente son más fáciles de usar, son conductualmente más complejos que los condicionados. No sólo difieren en el estímulo que induce la respuesta, sino que todos producen una respuesta defensiva con una expresión temporalmente ordenada.

A favor del uso de estos modelos no condicionados podemos mencionar que tienen un nivel más alto de validez neurobiológica, no requieren entrenamiento y son menos susceptibles a la interferencia de procesos motivacionales. Algunos ejemplos incluyen, el laberinto elevado en forma de cruz, la conducta defensiva de enterramiento y el modelo de interacción social (Lister, 1991; Molina y Téllez, 2002).

4.1.1 Criterios de validez para modelos animales de ansiedad

Para que un modelo animal sirva para probar fármacos ansiolíticos y pueda ser considerado como indicador específico de ansiedad, es necesario que cumpla con algunos de los tres criterios básicos que son: correlación, isomorfismo y homología (Treit, 1985; Lister, 1991).

El criterio de correlación es fundamentalmente farmacológico e incluye tres requisitos básicos que son: sensibilidad, selectividad y potencia relativa. El primero se refiere a que el modelo debe ser sensible al fármaco de una manera dosis-dependiente, de forma análoga a aquellos compuestos cuya actividad ansiolítica sea conocida, además esta sensibilidad puede detectar diferencias en los niveles de ansiedad dadas por algunas variaciones fisiológicas, por ejemplo, diferentes condiciones hormonales. El segundo requisito dice que el modelo debe ser selectivo, es decir que compuestos sin actividad ansiolítica no imiten los efectos de aquellos que si poseen esta actividad. Por último la potencia relativa de los agentes ansiolíticos en el modelo, la cual debe mostrar cambios significativos en la respuesta al modificar las dosis del fármaco ansiolítico (Treit, 1985).

El criterio de isomorfismo indica que, aunque es difícil comparar la ansiedad animal y la ansiedad humana, es posible establecer algunos elementos comunes y suponer que ambos se encuentran regulados neural-, bioquímica- y hormonalmente de manera análoga.

El criterio de homología se basa en las semejanzas entre las condiciones en las que se encuentran tanto los animales como el ser humano al momento de experimentar la ansiedad, así como el tipo de estímulo que desencadena la conducta de nuestro interés. Aunque estos dos últimos criterios son difíciles de valorar, deben tenerse en cuenta como estrategias de investigación para la elección correcta de un modelo.

4.1 PRUEBA DE CONDUCTA DEFENSIVA DE ENTERRAMIENTO

El método utilizado para establecer los niveles de ansiedad en nuestro estudio fue el paradigma propuesto por Pinel y cols. en 1978 en el que se estudia la conducta defensiva de enterramiento en los roedores. Este paradigma fue seleccionado para la investigación tomando en cuenta que cumple con los tres requisitos farmacológicos que son sensibilidad, selectividad y potencia relativa, aunque también cumple con el criterio de homología ya que simula las conductas dadas por el trastorno de ansiedad generalizada (Pinel y Treit, 1978; Treit, 1985).

Este modelo explota una conducta innata de los roedores que surge ante la presencia de un estímulo aversivo, que reconoce como ajeno y potencialmente peligroso. En 1950, Hudson descubrió que las ratas dentro de su caja con aserrín en el piso y un plato de metal que contenía comida era cubierto por la rata con el aserrín, al observar esto, se dio cuenta que el animal chocaba con este objeto y se golpeaba de tal manera que lo reconocía como extraño. En 1962, Calhoun reportó que las ratas salvajes cavaban hoyos subterráneos en sus madrigueras cuando recibían una amenaza por algún depredador, de igual manera MacClintock en 1970, observó que las ardillas construían paredes en su madriguera para crear una pared alrededor del depredador y así cubrir su miedo. Ya en 1978, Pinel fue quien originalmente designó esta característica conductual como “enterramiento defensivo” y quien introdujo por primera vez este paradigma de “Conducta defensiva de enterramiento” (DeBoer y Koolhaas, 2002).

Este modelo se utilizó en este estudio ya que es posible inferir el estado de ánimo del animal mediante el análisis de su conducta en diferentes situaciones, además de ser un modelo que no requiere de entrenamiento del animal, es económico y los resultados obtenidos son replicados fácilmente por distintos observadores. También, tiene la característica que detecta al fármaco cuando esta produciendo un efecto sedante como es el caso de diazepam a una dosis mayor de 3 mg/kg, o cuando un fármaco tiene efectos ansiogénicos manifestado como un incremento de la conducta de enterramiento (Treit, 1994).

V. PARTICIPACIÓN DE LAS HORMONAS GONADALES EN LA ANSIEDAD

5.1 CICLO MENSTRUAL Y MENOPAUSIA

Los años reproductores normales de la mujer se caracterizan por cambios mensuales rítmicos en la intensidad de secreción de hormonas femeninas y los correspondientes cambios en los órganos sexuales: esta conducta rítmica se llama ciclo menstrual (Guyton, 1986). El más claro de estos cambios es la hemorragia vaginal periódica por la eliminación del recubrimiento endometrial del útero. La función menstrual normal es originada de la interacción del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, y cambios relacionados en tejidos blanco del aparato reproductor. En la mayoría de mujeres la hemorragia menstrual se presenta cada 25 a 35 días, con duración media del ciclo de 28 días. En las mujeres con ciclos ovulatorios, el intervalo desde el inicio de la menstruación hasta la ovulación, fase folicular (proliferativa), varía en duración y provoca variaciones en la duración del ciclo. El intervalo desde la ovulación hasta el inicio de la hemorragia menstrual, fase luteínica (secretora), es relativamente constante y promedia 14 ± 2 días en la mayoría de las mujeres.

La menstruación por lo general comienza entre los 10 y 16 años en la pubertad y cesa alrededor de los 45 ó 50 años en el periodo perimenopáusico (Goldfien, 2002). La menopausia ha sido definida como la cesación permanente de la menstruación resultado de una pérdida de la actividad ovárica (Hamilton y cols., 1988). Estrictamente hablando, menopausia se refiere a la pérdida del sangrado menstrual y se caracteriza por el aumento de la secreción de las gonadotropinas: hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), persistiendo niveles bajos de los esteroides ováricos estradiol y progesterona (Rubinow y Schmidt, 2003).

Los principales órganos del aparato reproductor femenino son ovarios, trompas de Falopio, útero y vagina, Figura 7. La función primordial del ovario de las hembras de mamíferos es la producción de óvulos. Ésta es una característica general, sin embargo, el estímulo que provoca la maduración y liberación de dichos óvulos varía entre las especies. El estudio sistemático del ovario alcanzó uno de sus momentos culminantes entre los años 1600 y 1700 con la descripción detallada de los folículos ováricos por el italiano Regnier DeGraaf, descubridor del cuerpo lúteo. Los estudios de DeGraaf y otros investigadores establecieron que el ovario tenía folículos que pasaban por un proceso de maduración hasta alcanzar la ovulación, esto es, presentaban un ciclo. Probablemente a consecuencia de que en nuestra especie las mujeres presentan ovulación periódicamente, de manera espontánea, se consideró que este fenómeno era similar en todas las especies de mamíferos. Sin embargo, el propio DeGraaf publicó una observación donde reconoció la importancia de la cópula

para la ovulación en la coneja, al reconocer que el cuerpo lúteo en los ovarios de estos animales normalmente no está presente y sólo se detectan cuando ocurre la cópula.

A inicios del siglo XX se estableció que las hembras de los mamíferos podían clasificarse en dos grandes grupos dependiendo de los factores que inducían la ovulación: se estableció que existen “ovuladores espontáneos”, esto es, que la ovulación ocurre de manera periódica, cíclica, en base a un ritmo biológico, un ejemplo serían las ratas con un ciclo ovárico de 4-5 días, y la mujer con aproximadamente 28 días, y además también existen “ovuladores reflejos” en los cuales se necesita el estímulo de la cópula por un macho para que ocurra la ovulación, los ejemplos serían el conejo, el camello y el hurón (Caba y Centeno, 2002).

5.2 CONTROL CEREBRAL DE LA OVULACIÓN

Independientemente del tipo de ovulación que presente la especie, el control de este proceso se encuentra en el cerebro, específicamente en una región denominada hipotálamo y zonas asociadas, Figura 7, en donde se encuentran las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Estas neuronas sintetizan dicho neuropéptido, lo liberan en la eminencia media y de aquí es transportada por vasos sanguíneos hacia la adenohipófisis, donde estimula células especializadas llamadas gonadotropos; ellos producen la LH y la FSH, ambas son glucoproteínas pequeñas llamadas gonadotropinas que se producen en la glándula pituitaria y estimulan a su vez al ovario para aumentar los niveles de estrógenos y progesterona durante el ciclo menstrual. La FSH estimula el desarrollo de los folículos ováricos mientras que la LH induce ovulación (Northrup, 2002; Caba y Centeno, 2002). Las hormonas ováricas cierran el círculo ejerciendo una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la hipófisis que registran las variaciones de los esteroides sexuales ováricos.

El hipotálamo regula la producción de todas estas hormonas y es a su vez regulado por ellas y por muchas otras. Esta estructura tiene receptores no sólo para la progesterona, el estrógeno y los andrógenos (como por ejemplo, la deshidroepiandrosterona y la testosterona), sino también para la noradrenalina, la dopamina y la serotonina, neurotransmisores que regulan el estado anímico entre otros.

Por otro lado la principal función de los estrógenos (estradiol, estrona y estriol) es estimular el desarrollo de las mamas, los ovarios y el útero, y participar en el desarrollo y la maduración de los folículos que contienen los óvulos. En tanto que para la progesterona su principal tarea es preparar y mantener el útero para su función más importante: el embarazo.

La progesterona se eleva en previsión del embarazo, estimulando el engrosamiento del revestimiento uterino con tejido abundante y bien vascularizado para sostener al embrión, y después baja drásticamente si no se produce el embarazo. Este brusco bajón de progesterona es lo que señala el desprendimiento del revestimiento uterino engrosado en forma de sangre menstrual (Northrup, 2002). La progesterona proviene de una glándula temporalmente amarillenta del ovario llamada “cuerpo lúteo” que se forma con rapidez en la pequeña estructura parecida a un quiste que queda cuando el folículo ovula. El cuerpo lúteo produce mayores cantidades de progesterona hasta que el cuerpo le envía la señal que indica -no hay embarazo – momento en el que el cuerpo lúteo se reabsorbe (Guyton, 1986).

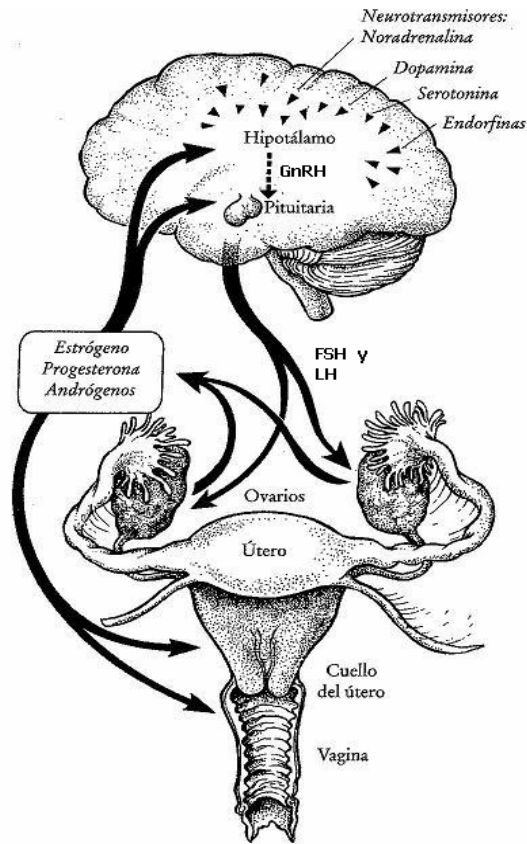


Figura 7. Esquema cerebral y órganos sexuales femeninos que muestran la conexión entre el hipotálamo, la glándula pituitaria y los ovarios. Modificada de Northrup, 2002.

5.3 BIOSÍNTESIS DE HORMONAS ESTEROIDEAS

El ovario maduro sintetiza y secreta de manera activa varias hormonas. Entre éstas se encuentran los esteroides sexuales que incluyen estrógenos, progesterona, andrógenos y sus precursores, los cuales se sintetizan a partir del colesterol, que se encuentra en la glándula, tanto en su forma libre como esterificado con ácidos grasos (ésteres de colesterol). El colesterol que deriva ya sea de lipoproteínas circulantes (LDL) o de ésteres de colesterol en la glándula, se convierte en pregnenolona por medio de la acción de la enzima mitocondrial P450_{scc}, la cual elimina un fragmento de seis carbonos, el ácido hipocaproico. Esta reacción es el paso limitante en el proceso biosintético y está controlado por la LH de la adenohipófisis. La pregnenolona formada por esta reacción puede convertirse en progesterona o en 17 α -hidroxipregnenolona, como se ilustra en la Figura 8. La conversión a progesterona requiere la acción de la 3 β hidroxisteroide deshidrogenasa y la $\Delta^{5,4}$ cetosteroide isomerasa, que cambia el doble enlace de la posición Δ^5 a la posición Δ^4 . La progesterona es secretada en grandes cantidades por el cuerpo lúteo después de la ovulación, sin embargo, también sirve como precursor menor para andrógenos y estrógenos, pues es sustrato para P450_{c17} (17 α -hidroxilasa), que la convierte en 17 α -hidroxiprogesterona en el retículo endoplásmico. Después de la 17 α -hidroxilación, la cadena lateral de dos carbonos (20 y 21) puede partirse por acción de la P450_{c17 α} (17,20-liasa) para formar andrógenos (Goldfien, 2002).

La 17 α -hidroxipregnenolona se convierte por la P450_{c17 α} (liasa) en dehidroepiandrosterona (DHEA); este compuesto puede convertirse a su vez en androstenediona. Ésta es la vía principal para la producción del andrógeno. Aunque la androstenediona es el principal andrógeno secretado por el ovario, también se liberan cantidades pequeñas de DHEA y testosterona. El estradiol, que es el estrógeno más activo producido por el ovario, se sintetiza a partir de andrógenos por la acción de la enzima P450 aromatasa. El proceso implica tres pasos: hidroxilación del grupo metilo en el carbono 19, oxidación de este grupo e hidroxilación en la posición 3 α . Estos pasos ocurren en la fracción microsomal (Goldfien, 2002).

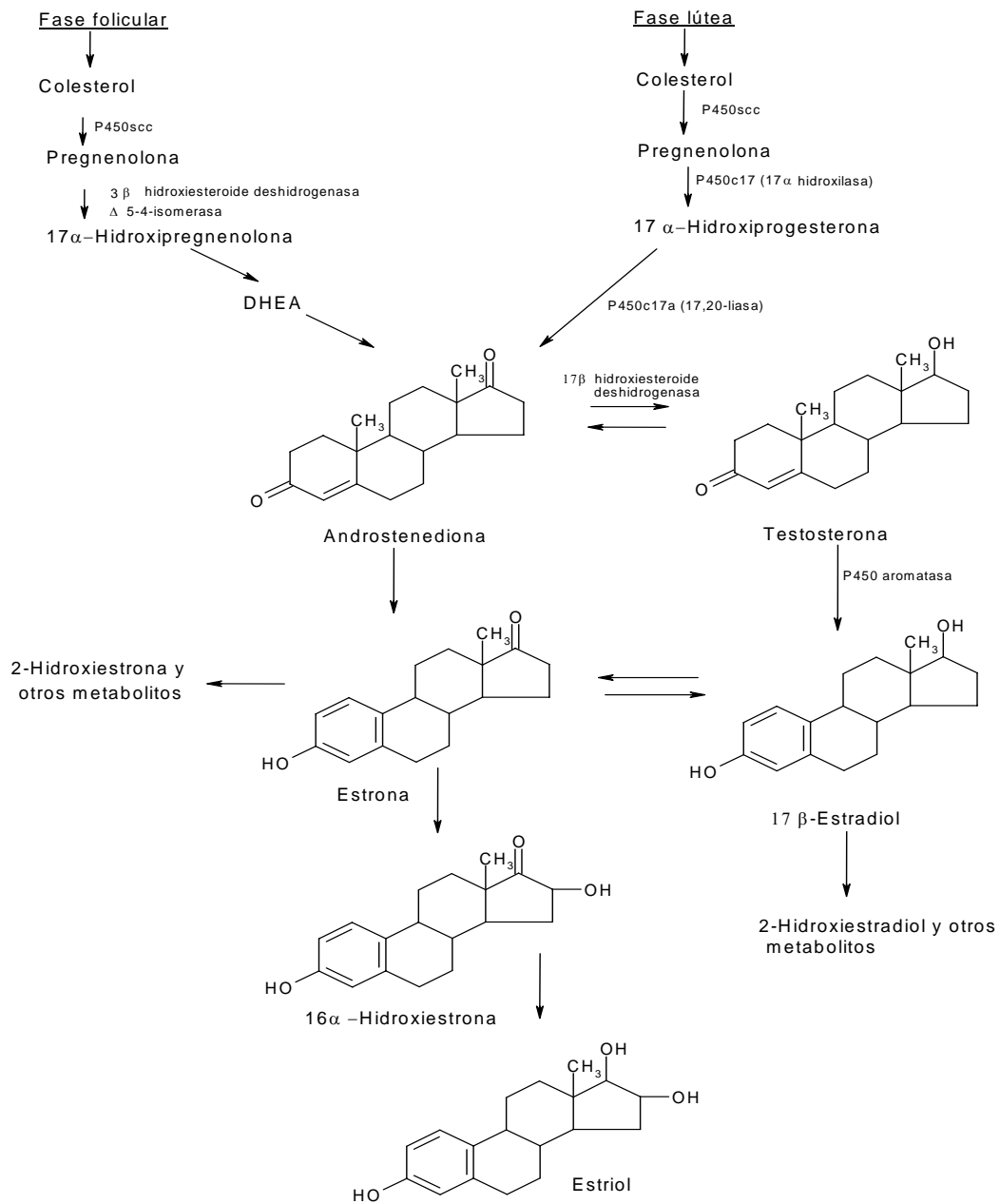


Figura 8. Biosíntesis y metabolismo de los estrógenos.

5.4 DESÓRDENES PSIQUIÁTRICOS ASOCIADOS A LA FUNCION OVÁRICA

La fase de fertilidad del ciclo menstrual y el embarazo se caracterizan por la presencia de cantidades altas de hormonas gonadales, por el contrario, el periodo post-parto, la menopausia y el periodo premenstrual se caracterizan por niveles circulantes bajos de estrógenos y progesterona, todos estos hallazgos lleva a la conclusión de que las hormonas gonadales o sus derivados, junto con otras hormonas pudieran, aparte de sus funciones reproductoras, fungir como moduladores endógenos de la ansiedad (tanto en la mujer como en el hombre) (Picazo y Fernández-Guasti, 1993; Ferreira, 2003).

Algunas mujeres experimentan cambios emocionales y conductuales que parecen estar temporalmente ligados al ciclo menstrual. Debido a que el ciclo menstrual ha sido descrito en términos de fluctuaciones de hormonas esteroideas, se ha propuesto una hipótesis, la cual dice que las hormonas ováricas (estrógenos y progesterona) o sus efectos pueden estar ligadas a los síntomas afectivos en el ciclo menstrual (Hamilton y cols. 1988; Endicott y Halbreich, 1988; Halbreich, 1997), las cuáles son importantes en la etiología del trastorno disfórico premenstrual (TDP) (Watson y cols., 1989). Muchas hembras (aquellas de ovulación espontánea) presentan oscilaciones hormonales relacionadas con la ovulación y por tanto, tienen una periodicidad. En forma similar, muchas tienen cambios hormonales en periodos específicos asociados al parto, la lactancia o el climaterio. Se ha observado que en estos periodos existe un incremento en los niveles de ansiedad y depresión en un porcentaje de la población femenina, lo que sugiere que las hormonas esteroideas pudieran estar participando en la expresión de algunas alteraciones emocionales en las mujeres (Fernández-Guasti y cols., 2002). También se ha estudiado que los esteroides gonadales tienen una función en el sistema nervioso central, los cuales se han relacionado a los cambios conductuales y desórdenes del estado de ánimo presentados en las diferentes etapas como son ciclo menstrual y perimenopausia (Rubinow y Schmidt, 2003). La perimenopausia ha sido definida como el periodo transicional de la vida reproductiva a la no reproductiva (Northrup, 2002) y abarca un periodo de aproximadamente 5 años antes de la menopausia y 5 años después de la misma (Jensvold y cols., 1996).

Debido a todos estos cambios hormonales durante el transcurso de la vida de la mujer, ha dado lugar a una clasificación de desórdenes psiquiátricos como son el Síndrome Premenstrual (SPM) y el Trastorno Disfórico Premenstrual (TDPM).

5.4.1 Síndrome Premenstrual (SPM) y Trastorno Disfórico Premenstrual (TDPM)

El Síndrome premenstrual, se caracteriza por una serie de síntomas emocionales, conductuales y somáticos que se inician de dos a doce días antes de la menstruación y alcanza su máximo nivel justamente antes de la menstruación, es decir, en la fase lútea tardía del ciclo en mujeres ovulantes y declina al iniciarse la menstruación. Dichos síntomas varían desde la ansiedad e irritabilidad moderada, hasta la depresión (Freeman y Sondheimer 2003), aunque sus síntomas no son severos, los resultados son discapacitantes. En un estudio que se realizó en Estados Unidos, se demostró que el 60-80 % de las mujeres menstruando experimentan síntomas premenstruales relacionadas con el SPM (Rapkin y Mikacich, 2006).

El Trastorno disfórico premenstrual, es mucho menos común que el SPM, le ocurre del 2% al 9% de mujeres ovulantes, sus síntomas son mucho más severos y ejercen daño psicológico (Freeman y Sondheimer, 2003).

Para un buen diagnóstico del TDPM la paciente debe presentar por lo menos cinco de los siguientes síntomas, durante la mayor parte del día de la última semana de la fase lútea de la mayoría de los ciclos menstruales del último año, que empieza a remitir dos días después del inicio de la fase folicular y que desaparece completamente en la semana siguiente a la menstruación (Freeman y cols. 1985; Goldfien, 2002; DSM-IV-TR, 2003).

- Estado de ánimo deprimido, sentimiento de desesperanza e ideas de auto desaprobarción acusada.
- Ansiedad, tensión, sensación de agobio o de estar “al límite”.
- Labilidad emocional evidente (p.ej. ataques de tristeza, llanto, o hipersensibilidad al rechazo).
- Enfado, irritabilidad o aumento de conflictos interpersonales de forma acusada y persistente.
- Pérdida de interés por las actividades cotidianas (p.ej. trabajo, escuela, amigos, aficiones).
- Sensación subjetiva de dificultad para concentrarse.
- Letargo, fatigabilidad fácil o falta evidente de energía.
- Cambios significativos del apetito, atracones o antojos por determinadas comidas.
- Hipersomnia o insomnio.
- Sensación subjetiva de estar rebasada o fuera de control.

- Hipersensibilidad o aumento del tamaño mamario, dolores de cabeza, molestias articulares o musculares, sensación de hinchazón o ganancia de peso.

En el TDPM, estas alteraciones interfieren marcadamente con el trabajo, la escuela, las actividades sociales habituales o las relaciones interpersonales (p.ej. evasión de actividades sociales, disminución de la productividad y deficiencia en el ámbito laboral académico), no ocurriendo así con el SPM (DSM-IV-TR, 2003).

La principal diferencia entre el SPM y el TDPM puede establecerse en base a un patrón sintomático característico, su gravedad y el deterioro que provoca, además, el TDPM es un trastorno que sufre la mujer pero la padecen los que la rodean ya que afecta de manera drástica la comunicación familiar y social (Brown y Zimmer, 1986).

5.5 TRATAMIENTO

El tratamiento se divide en dos: aquellos que alivian los síntomas somáticos y los que eliminan los síntomas psiquiátricos.

Para los síntomas somáticos, el objetivo principal del tratamiento es proporcionar más comodidad a la mujer y permitirle que funcione con más normalidad; los cambios simples en el estilo de vida, una dieta y un programa de ejercicios, así como estrategias en el manejo del estrés, son medios útiles para iniciar el tratamiento. La restricción de sal puede reducir el edema y la sensación de plenitud, entre otros se encuentra la abstención de alcohol y cafeína (Steiner, 1997; Goldfien, 2002).

Para el tratamiento de la dismenorrea, que es el problema más agudo del SPM, es tratado con inhibidores de la síntesis de prostaglandinas antes de la menstruación como es el ácido mefenámico y el naproxeno sódico (Marván y Contreras, 1993). El naproxeno, 550 mg dos veces al día o el ibuprofeno 600 mg tres veces al día, tomados desde el inicio de los síntomas hasta que comienza la hemorragia, son eficaces para la cefalea, los cólicos, los dolores de la espalda y musculares (Freeman y Sondheimer, 2003).

Para el dolor de las mamas es útil el tamoxifeno, que es un fármaco que bloquea los efectos de los estrógenos, así como la bromocriptina un agonista de dopamina para los síntomas de mastalgia (Halbreich y cols., 2006).

La espironolactona, un fármaco ahorrador de potasio, en dosis de 50 a 100 mg a partir del día 12 hasta la menstruación, reduce el edema, la hipersensibilidad de las mamas y la sensación de plenitud y puede servir cuando no son eficaces la restricción de sal y el ejercicio, para aliviar el edema (Rubinow y Schmidt, 1995).

Para tratar los síntomas psiquiátricos, se ha estudiado que las irregularidades de la neurotransmisión de 5-HT están relacionadas con la depresión, la ansiedad y la ganancia excesiva de peso, por lo tanto, los tratamientos farmacológicos en la mayoría de las pacientes con síntomas de ansiedad o depresión, han tenido alta eficacia los ISRS, como la fluoxetina que es uno de los fármaco más efectivos y que presentan menos efectos colaterales como son tolerancia, dependencia y efectos sedantes. Muchas pacientes responden al tratamiento con fluoxetina cuando éste es aplicado durante las dos últimas semanas del ciclo (Mitwally y cols., 2002). En caso de respuesta inadecuada se puede utilizar el tratamiento diario (Freeman y Sondheimer, 2003). La fluoxetina en dosis de 20 mg diarios por lo general es adecuada, pero en algunos pacientes han sido necesarias dosis mayores (Steiner y cols., 2001). También han sido eficaces otros fármacos inhibidores de la recaptura de serotonina como sertralina para tratar los desórdenes de pánico en dosis de 50 a 100 mg diarios durante la fase lútea tardía (Jensvold y cols., 1996, Steiner y cols, 1997; Freeman y Sondheimer, 2003).

Otro ISRS que ha demostrado ser efectivo para tratar el SPM y el TDPM es el citalopram, este fármaco fue estudiado en el Instituto Nacional de Psiquiatría con dos grupos de pacientes diagnosticadas con TDPM, este fármaco fue administrado a la dosis de 20 mg/día. Al primer grupo de pacientes se les dio un tratamiento continuo, es decir, una administración del fármaco durante todo el ciclo menstrual. Al segundo grupo de pacientes se les trato de forma intermitente, esto es, una administración del fármaco durante la semana previa a la menstruación. Los resultados mostraron que la administración de forma continua fue mejor que la administración intermitente ya que la sintomatología premenstrual disminuyó en las pacientes tratadas con citalopram durante todo su ciclo menstrual (Flores-Ramos y cols., 2003).

También se han empleado otros antidepresivos serotoninérgicos como nefazodona y clorimipramina los cuales también tienen buenos resultados (Sundbland y cols., 1992).

Como fármacos ansiolíticos eficaces para tratar el TDPM existen el alprazolam, a una dosis de 0.125 a 0.25 mg tres veces al día, al igual que la buspirona a 20 mg tres veces diarias administrado de forma intermitente, es decir, durante la semana previa a la menstruación que es el periodo sintomático en pacientes con síntomas notables de irritabilidad y ansiedad (Steiner y cols. 1997; Goldfien, 2002).

Cuando los síntomas duran más de una semana, o son muy graves, se puede intentar suprimir la ovulación. Las mujeres que responden a la supresión de la ovulación con danazol, hormona liberadora de gonadotropina, medroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona de liberación lenta, implantes o parches de estradiol y noretisterona oral, pueden tener alivio que continúa después de un periodo de tratamiento de 1 año (Watson y cols., 1989). Si los síntomas regresan y persisten, se puede pensar en la ooforectomía para las mujeres en quien el síndrome provoca trastornos importantes en su vida (Freeman y Sondheimer, 2003).

VI. CICLO ESTRAL DE LA RATA

6.1 CICLO ESTRAL DE LA RATA

Como ya se había mencionado antes, los animales como la rata hembra también cumplen con un ciclo hormonal o ciclo reproductivo, el cual es denominado ciclo estral. El término estral deriva del latín *oestrous* que significa vigor, furor o frenesí (Harvey, 1981; Freeman, 1988) un ciclo estral completo de una rata normal sana va desde 4 a 5 días durante todo el año y consta de 4 fases, cada fase puede ser identificada por las características de las células epiteliales de la vagina, las cuales pueden ser estudiadas tomando una muestra de las células de la vagina de la rata con ayuda de un gotero que contiene gotas de NaCl al 0.9%. La preparación en fresco se observa al microscopio (10X) para determinar las características de las células epiteliales, así como la presencia de leucocitos, ver Figura 9.

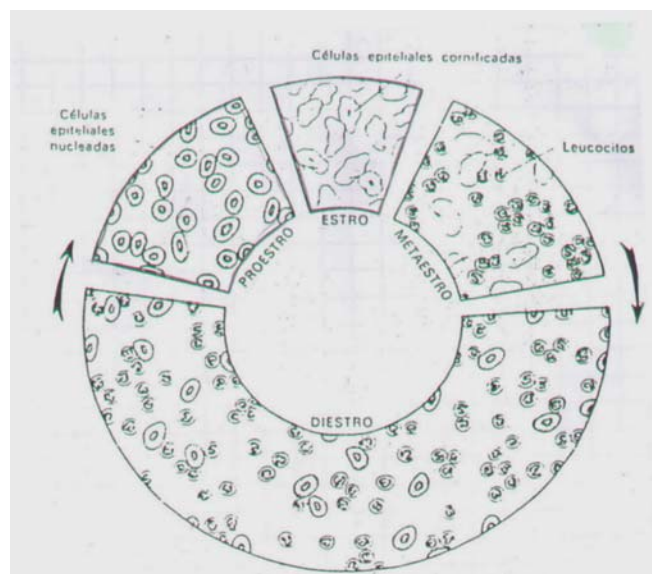


Figura 9. Citología vaginal de la rata en las diferentes fases del ciclo estral.

Las fases del ciclo se definen de la siguiente manera:

1. **Metaestro:** en esta fase los niveles hormonales de estradiol, progesterona y LH son bajos hasta el inicio del diestro, como se observa en la Figura 10, tiene un tiempo de duración de 6 a 8 hrs. Se caracteriza por la presencia tanto de células cornificadas como de leucocitos.

2. **Diestro:** en esta etapa del ciclo estral, se empiezan a elevar los niveles de estrógenos hasta llegar a su pico máximo en el proestro, los niveles de FSH y LH se mantienen abajo, esta fase tiene una duración de 55 a 57 hrs. Al examinar la muestra al microscopio se observan leucocitos y a las últimas horas del diestro empiezan a aparecer algunas células nucleadas, empezando nuevamente el ciclo. (Harvey, 1981; Freeman, 1988).

3. **Proestro:** es la fase en la cual ocurre la ovulación, durante las primeras horas de esta etapa se presentan los valores plasmáticos más altos $17\text{-}\beta$ estradiol (E_2) secretado por el folículo ovárico lo que a su vez provoca la liberación de la LH que alcanza su máxima concentración plasmática en la tarde del proestro, casi simultáneamente con el pico de FSH, hay una súbita elevación de progestinas, principalmente progesterona y 20α -dehidroprogesterona. Esta fase tiene una duración de 12 a 14 horas, a la examinación del líquido vaginal bajo el microscopio, se observan células epiteliales nucleadas (Freeman, 1988).

4. **Estro:** es la segunda fase y aquí los niveles de estradiol bajan, manteniéndose al inicio de esta etapa los niveles elevados de progesterona y empiezan a descender para dar paso a la siguiente fase. Esta etapa dura de 25 a 27 horas y se caracteriza por la presencia de células epiteliales cornificadas.

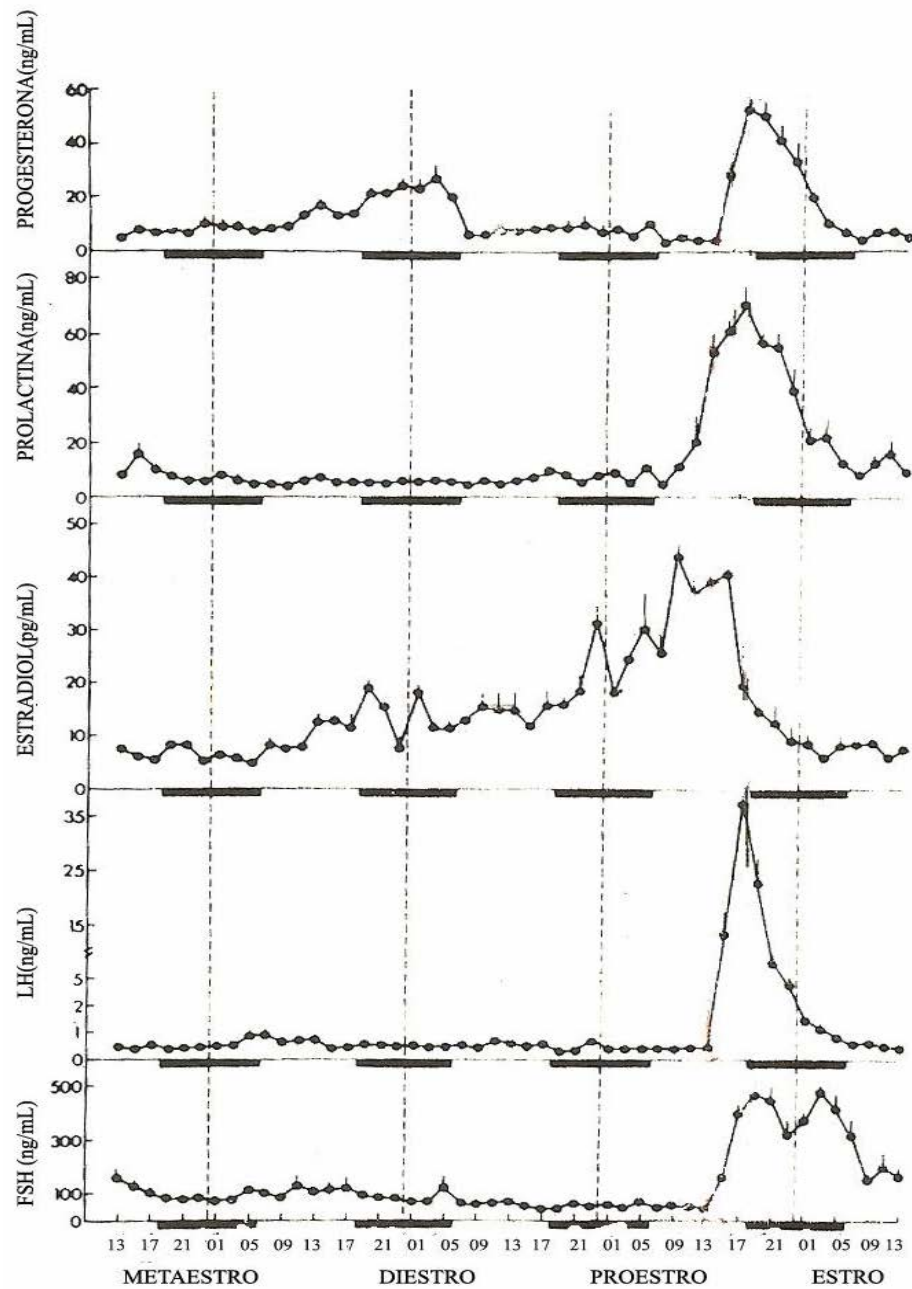


Figura 10. Concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, E_2 , LH y FSH durante las diferentes fase del ciclo estral de la rata. En el eje de las x se encuentran las horas del día durante los cuatro días que dura el ciclo; en el eje de las y se muestran las concentraciones de las diferentes hormonas. Modificado de Freeman 1988.

6.2 VARIACIONES HORMONALES Y NIVELES DE ANSIEDAD A LO LARGO DEL CICLO ESTRAL

En la última década, se ha reportado que múltiples funciones de la serotonina tales como síntesis, liberación, recaptura y catabolismo varían a lo largo del ciclo estral de la rata y se piensa que estas variaciones son debidas a las fluctuaciones hormonales de estrógenos y progesterona (Maswood y cols., 1999).

También es posible asociar las fluctuaciones hormonales del ciclo estral con cambios de conducta. Se ha demostrado que los niveles de ansiedad en la rata, varían durante las diferentes fase del ciclo estral, encontrándose que tales niveles de ansiedad son más bajos durante la fase de proestro tardío, principalmente, aunque también durante el estro, mientras que en diestro, metaestro y en ratas ovariectomizadas se encontraron niveles elevados de ansiedad (Fernández-Guasti y Picazo, 1992). Ya que el proestro se caracteriza por concentraciones elevadas de estradiol y progesterona (Freeman, 1988), se planteó la interrogante de cuál de las dos hormonas gonadales era la responsable de la ansiólisis encontrada en estos animales. Los resultados mostraron que el estradiol en ratas ovariectomizadas no modificó la ansiedad experimental, mientras que, la progesterona manifestó actividad ansiolítica de una manera dosis-dependiente, sin embargo, este efecto de la progesterona se perdió en las ratas pretratadas con estrógenos (Fernández-Guasti y Picazo, 1992).

Las evidencias acumuladas de los efectos de la progesterona sobre el sistema nervioso muestran que en particular uno de sus derivados metabólicos, la alopregnanolona (3 α -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona), actúa potenciando el efecto del GABA sobre su receptor GABA_A, este efecto pone de manifiesto que la progesterona y su metabolito se comportan como las benzodiazepinas, pues poseen notables efectos ansiolíticos (Picazo y Fernández-Guasti, 1995). Esto se comprobó cuando se utilizó un antagonista selectivo de las benzodiazepinas, como el flumazenil; éste no tuvo efecto sobre la ansiedad experimental cuando se administro solo, pero sí previno efectivamente la reducción de la ansiedad producida por la alopregnanolona, lo cual nos indica un claro mecanismo de acción vía el complejo receptor GABA_A-benzodiazepinas (Fernández-Guasti y Picazo, 1995).

Además de las acciones ansiolíticas que poseen algunas hormonas gonadales, también se les ha atribuido otra propiedad, que es modular el efecto de algunos fármacos psicoactivos, por ejemplo, el diazepam que es el mejor representante de las benzodiazepinas, cuyo efecto ansiolítico es facilitado durante la fase de proestro en la rata, observándose también este efecto del diazepam al

administrar progesterona en ratas ovariectomizadas (Fernández-Guasti y Picazo, 1990; Picazo y Fernández-Guasti, 1992).

Debido a los efectos adversos que presentan las benzodiazepinas, como son tolerancia y dependencia, se ha propuesto el estudio de otros fármacos ansiolíticos como son los antidepresivos. En este tipo de fármacos (por ejemplo, desmetilimipramina o DMI) también se ha observado una facilitación de su acción ansiolítica, con progesterona, y en mayor magnitud, con estradiol (Fernández-Guasti y cols., 1999; Martínez-Mota y cols., 2000). Los estrógenos, ya sea naturales o sintéticos (por ejemplo, etinil-estradiol) también facilitan el efecto antidepresivo de DMI y fluoxetina (FLX) en ratas ovariectomizadas (Estrada-Camarena y cols., 2003; 2004). DMI es un inhibidor de la recaptura de noradrenalina, mientras que FLX es un ISRS, por lo que estos experimentos nos sugieren una interacción entre las hormonas gonadales y los sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos.

Con estos hallazgos se propone que los efectos ansiolíticos de otros fármacos, además de los benzodiazepínicos, también pueden ser regulados por esta interacción hormonal.

VII. JUSTIFICACIÓN

Trabajos previos indican que el efecto de algunos ansiolíticos varía dependiendo de la condición endocrina, mostrando un mayor efecto durante estados endocrinos de predominio hormonal. A nivel preclínico esta interacción farmacológica ha sido extensamente estudiada usando fármacos como las benzodiazepinas y los antidepresivos tricíclicos, cuyos efectos se ven incrementados durante el proestro temprano, el proestro tardío y por la administración de progesterona, estradiol y la combinación de ambas hormonas. Sin embargo, se desconoce si esta interacción también se establece con fármacos que afectan preferencialmente al sistema serotoninérgico, tales como los ISRS y los agonistas del receptor 5-HT_{1A}. Por ello, el propósito del estudio es hacer una evaluación del efecto ansiolítico de un ISRS, la fluoxetina, y de un agonista total de los receptores 5-HT_{1A}, el indorrenato, en ratas tanto ovariectomizadas como en aquellas gonadalmente intactas estudiadas en las diferentes fases del ciclo estral.

VIII. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

8.1 HIPÓTESIS

Si el efecto de otros fármacos ansiolíticos varía en relación a la concentración de hormonas gonadales en la rata hembra, por ejemplo, ovariectomizadas *versus* ratas intactas, entonces el efecto ansiolítico de los compuestos serotoninérgicos indorrenato y fluoxetina también será modificado por la condición endocrina.

8.2 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar los posibles cambios en el efecto ansiolítico de la fluoxetina y el indorrenato en ratas hembra en diferentes condiciones endocrinas

8.3 OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el efecto ansiolítico de indorrenato y fluoxetina en ratas ovariectomizadas.
- Determinar los posibles cambios en el efecto ansiolítico de indorrenato y fluoxetina en ratas en diferentes fases del ciclo estral.

IX. MATERIAL Y MÉTODOS

9.1 ANIMALES

En todos los experimentos utilizamos ratas hembra de la cepa Wistar (250 a 300 g de peso) provenientes del bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Las ratas fueron mantenidas en grupos de 5 por caja (33 x 44 x 20 cm), en condiciones de luz-oscuridad de 12/12 h (la luz fue encendida a las 22:00 horas), y tuvieron libre acceso al agua y al alimento. El manejo de los animales se llevo a cabo siguiendo las recomendaciones de la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

9.2 CIRUGÍA

Las ratas hembra fueron ovariectomizadas con el fin de eliminar la principal fuente endógena de estradiol y progesterona. Fueron anestesiadas con 2-2-2-tribromoetanol a la dosis de 200 mg/kg (FLUKA, i.p., 1 mL/100g de peso). La cirugía consistió en realizar una incisión en la zona abdominal del animal hasta exponer los oviductos y los ovarios. Ya localizados, los oviductos fueron ligados para poder extirpar los ovarios; una vez terminado, se suturó el músculo y la piel del animal, y se aplicó un antiséptico local para evitar infecciones. Una vez terminada la cirugía, las ratas fueron mantenidas en el bioterio durante tres semanas antes de ser sometidas a los experimentos. Este periodo se dio para que el animal se recuperara bien de la cirugía y para que los niveles de las hormonas gonadales disminuyeran.

9.3 DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA

Para conocer la fase del ciclo estral en que se encontraba cada hembra, se utilizó la técnica del frotis vaginal. La muestra de células vaginales se tomó con un gotero que contiene gotas de NaCl al 0.9%, se hizo una preparación en fresco la cual se observó al microscopio (10X) para determinar las características de las células epiteliales. El frotis se tomó diariamente alrededor de las 11:00 a.m. durante 21 días, con el objeto de asegurar que sólo las hembras con al menos tres ciclos regulares fueran seleccionadas para los experimentos.

9.4 TRATAMIENTOS Y SERIES EXPERIMENTALES

Los fármacos utilizados en los experimentos fueron fluoxetina (FLX, Eli-Lilly Co.), e indorrenato (CINVESTAV-Miles, México D.F.).

Las soluciones de los fármacos fueron preparadas diariamente en NaCl al 0.9 % y administradas en un volumen de 2 ml/kg. A continuación se describen los tratamientos empleados en cada subgrupo de animales en los dos experimentos realizados.

9.4.1 Experimento 1. Efecto del indorrenato y de la fluoxetina en ratas hembras ovariectomizadas.

Para este primer experimento, se emplearon 80 ratas hembra ovariectomizadas, al primer subgrupo de animales (n= 30) se les administró diferentes dosis de fluoxetina 1.25, 2.5 y 5 mg/kg (10 ratas por cada dosis) por un período de 21 días, vía oral (administración crónica); la última administración se hizo 2 horas antes de realizar la prueba de ansiedad. El tratamiento con FLX fue de 21 días porque los antidepresivos, en general, tardan al menos tres semanas en hacer efecto cuando se usan en las dosis que utilizamos. Como ansiolíticos, este tiempo de tratamiento se justifica aún más porque administraciones de corto plazo generan ansiedad (datos no mostrados).

Al otro subgrupo de animales (n=30) se les administró de igual forma diferentes dosis de indorrenato 1.25, 2.5 y 5 mg/kg, vía intraperitoneal, una sola administración 90 minutos antes de empezar la prueba. La latencia de indorrenato, 90 min, se debe a que en este tiempo alcanza a detectarse en cerebro (Benítez-King y cols., 1991).

Al último subgrupo de este primer experimento (n=20), se les administró el vehículo (NaCl 0.9%). Para el control de fluoxetina (n=10) se les realizó el mismo procedimiento descrito arriba por 21 días; así mismo, para el grupo control de indorrenato (n=10) con una administración aguda.

9.4.2 Experimento 2. Efecto del indorrenato y de la fluoxetina en ratas hembra en las diferentes fases del ciclo estral

Para este experimento se emplearon 100 ratas que fueron divididas en dos subgrupos. El primer subgrupo de ratas (n=50) fue tratado con fluoxetina a la dosis de 1.25 mg/kg en un periodo de 21 días por vía oral. La última dosis fue administrada 2 horas antes de empezar la prueba de ansiedad.

A este subgrupo se le tomó frotis vaginales diariamente, los resultados obtenidos fueron agrupados de acuerdo a la fase del ciclo estral obteniéndose 4 grupos de ratas en las diferentes fases: diestro, proestro, estro y metaestro.

Al segundo subgrupo de ratas (n=50) tratadas con indorrenato, se les administró una sola vez una dosis de 2.5 mg/kg de dicho fármaco, vía intraperitoneal 90 minutos antes de empezar la prueba de ansiedad, a este subgrupo también se le tomó frotis diariamente por 21 días y de igual manera los resultados se agruparon de acuerdo a la fase de ciclo para obtener 4 grupos de ratas representando de igual manera a cada etapa del ciclo estral.

Las dosis de ambos fármacos fueron aquellas consideradas sub-óptimas en ratas ovariectomizadas (resultados de experimento 1) mientras que los tiempos de administración (crónico para fluoxetina *versus* agudo para indorrenato) fueron seleccionados de datos de la literatura, ya que bajo estas condiciones se produce efecto ansiolítico en ratas macho (Fernández-Guasti y Pícazo, 1990; López-Rubalcava y cols., 1992; Martínez-Mota y cols., 2000).

9.5 REGISTROS CONDUCTUALES

9.5.1 Prueba de enterramiento defensivo

Antes del registro conductual, las ratas fueron alojadas individualmente por 72 h en cajas de acrílico de 27 x 23 x 16 cm, con el fin de que el animal al momento de realizar la prueba no encuentre a la caja como un estímulo novedoso y perturbador; posteriormente, el registro se realiza en una caja idéntica a la del alojamiento, Figura 11, cuyo piso está cubierto con una capa de viruta fina. Una de las paredes de la caja tiene adherido un electrodo de 7 cm de largo, el cual se encuentra a dos centímetros sobre el material de recubrimiento y tiene una corriente de 0.3mA. La fuente de choque consiste en un estimulador de corriente constante (La Fayette Instruments Co., modelo 5806). Cuando el animal se acerca y toca el electrodo con el fin de explorarlo, se cierra el circuito y recibe uno ó varios choques a los que responde cubriendo el electrodo con el aserrín (Pinel y Treit, 1978), el registro de la prueba tiene una duración de 10 minutos y durante este periodo se cuantifica:

A) **La latencia de enterramiento:** tiempo transcurrido desde que el animal recibe el primer choque hasta que empieza a presentar la conducta de enterramiento; esta medida refleja la reactividad o tiempo de reacción del animal. Así, tiempos largos en la latencia denotan una reactividad disminuida, además, permite distinguir el efecto sedante de los fármacos (Treit, 1994).

B) La conducta acumulativa de enterramiento: tiempo que los animales invierten en cubrir el electrodo con el aserrín, esta variable es una medida directa de la ansiedad, por lo que niveles bajos de esta conducta reflejan estados bajos de ansiedad (Treit, 1994).

C) El número de choques eléctricos: número de choques que el animal recibe antes de iniciar la conducta de enterramiento. Este parámetro nos puede dar información sobre el estado de algia del animal y nos ayuda a distinguir efectos analgésicos de los fármacos estudiados. Este parámetro también se analiza con el fin de detectar posibles cambios en el aprendizaje de estimulación aversiva (Páez-Martínez y cols., 2003).

Se dice que un ansiolítico óptimo es aquel que reduce la conducta de enterramiento sin modificar la latencia o reactividad (Treit, 1985).

Puesto que en experimentos anteriores se ha demostrado que la experiencia previa del animal en este tipo de prueba puede modificar su conducta, se utilizan los animales sólo una vez en este paradigma (Pinel y Treit, 1978, De Boer y Koolhaas, 2002). Los resultados de cada parámetro fueron expresados como la media \pm el error estándar de la media (E.E.)

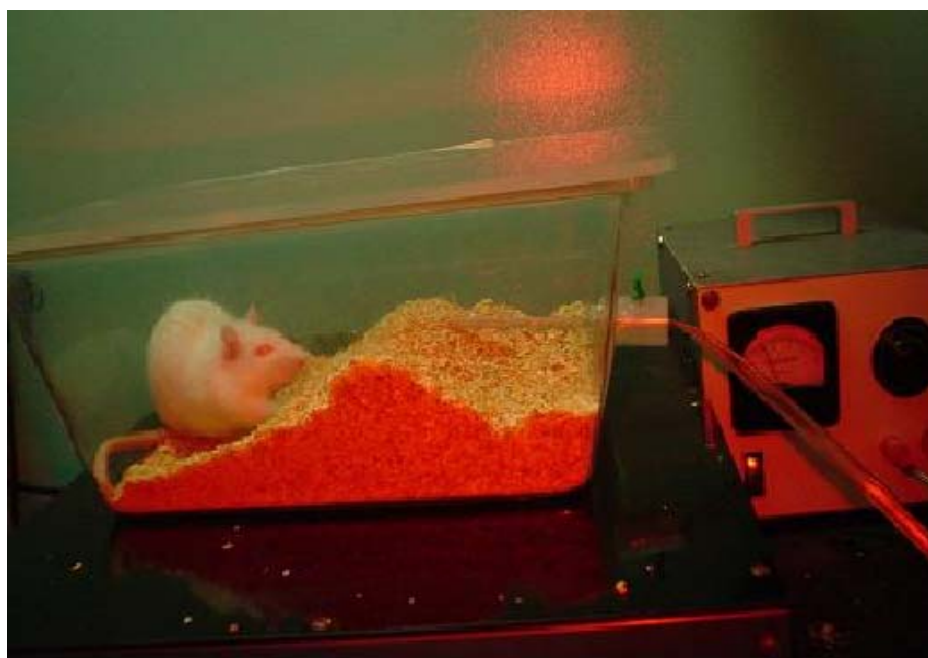


Figura 11. Caja de prueba del modelo de ansiedad “Conducta defensiva de enterramiento”.

9.5.2 Actividad ambulatoria

Inmediatamente después de realizar la prueba de enterramiento, se sometió al animal a una prueba de actividad ambulatoria, esto con el fin de descartar que los diferentes tratamientos aplicados afecten la motricidad de los animales. Para esta prueba se utilizó una caja de acrílico (33 x 44 x 20 cm), con el piso dividido en cuadros de 10 x 10 cm aproximadamente. Registramos el número de cuadros cruzados por la rata en un tiempo de 10 min, y los resultados fueron expresados como la media \pm E.E.

9.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos del experimento 1 fueron analizados con el ANDEVA de una vía para grupos independientes. Como pruebas *post-hoc* se aplicaron la prueba de Dunnet siempre y cuando el ANDEVA mostrara resultados estadísticamente significativos ($p < 0.05$). También se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney para comparaciones específicas.

Para el experimento 2, los resultados de las pruebas de enterramiento defensivo fueron analizados con ANDEVA de dos vías para grupos independientes, considerando a la fase del ciclo estral y los tratamientos como factores, seguido de una prueba de Tukey para hacer comparaciones múltiples. Cuando el ANDEVA de dos vías no mostró resultados estadísticamente significativos utilizamos la prueba U de Mann-Whitney para comparaciones específicas.

Los resultados de actividad ambulatoria se normalizaron y se expresaron como % de cambio respecto al grupo control.

Una vez calculados los % de cambio para cada tratamiento, se analizaron con ANDEVA de una vía.

X. RESULTADOS

10.1 EFECTO DEL NÚMERO DE INYECCIONES EN LA RESPUESTA DE ANSIEDAD EN RATAS OVX

En la Tabla 1 se muestra el efecto de 1 ó 21 administraciones de vehículo (solución salina) en ratas ovariectomizadas, en la prueba de enterramiento defensivo y actividad ambulatoria. La manipulación por el tipo de administración no produjo cambios estadísticamente significativos en el tiempo de enterramiento, la latencia de enterramiento, ni el número de choques. Esta manipulación tampoco modificó significativamente la actividad ambulatoria de los animales.

Tabla 1. Efecto del número de administraciones en ratas ovariectomizadas evaluadas en las pruebas conductuales.

	1 administración	21 administraciones	U de Mann-Whitney
TE	147.00 ± 71.62	177.3 ± 68.87	<i>p</i> = 0.35
LE	51.66 ± 16.31	63.4 ± 62.12	<i>p</i> = 0.59
NCH	3.20 ± 0.78	3.20 ± 0.78	<i>p</i> = 1.00
NC	112.33 ± 12.22	101.5 ± 22.46	<i>p</i> = 0.21

Abreviaturas TE: tiempo de enterramiento; LE: latencia de enterramiento; NCH: número de choques y NC: número de cuentas.

10.2 EFECTO DE LA CONDICIÓN HORMONAL SOBRE LA RESPUESTA DE ANSIEDAD

En la Tabla 2 se muestra el efecto de las diferentes condiciones endocrinas en ratas hembra en la prueba de enterramiento defensivo. El estado endocrino no produjo cambios estadísticamente significativos en el tiempo de enterramiento, la latencia de enterramiento, el número de choques y la actividad ambulatoria (los últimos dos parámetros no fueron incluidos en la tabla).

Tabla 2. Efecto de la condición hormonal sobre la respuesta de ansiedad.

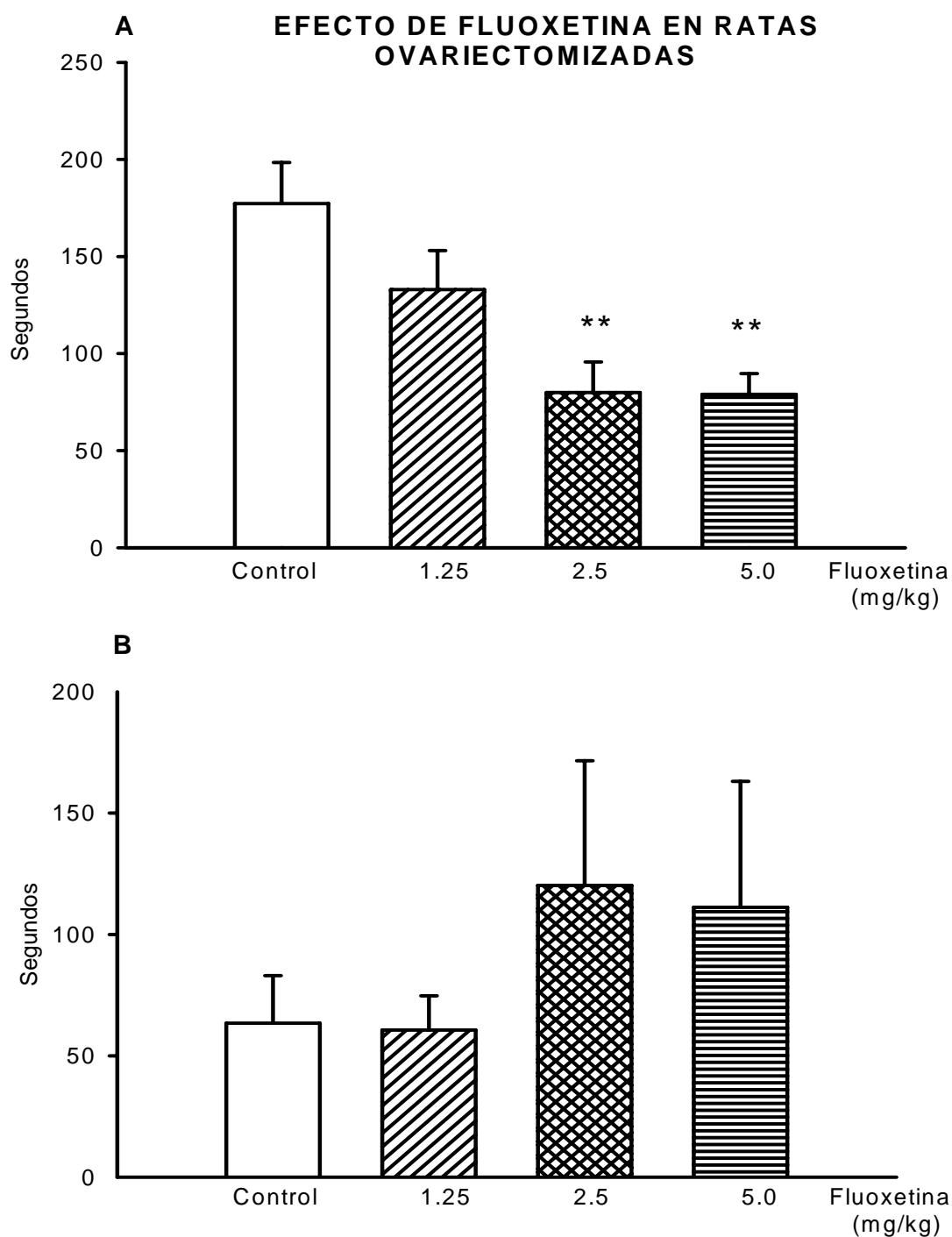
	TE	LE
Ovx	147.00 ± 71.62	51.66 ± 16.31
Proestro	165.37 ± 60.10	79.42 ± 45.86
Estro	199.13 ± 71.94	89.60 ± 59.11
Metaestro	180.21 ± 67.17	87.78 ± 73.82
Diestro	176.33 ± 79.70	101.66 ± 74.39
ANDEVA de 1 vía	$F_{(4,65)} = 0.87$ $p = 0.48$	$F_{(4,65)} = 1.027$ $p = 0.40$

Abreviaturas OVX: ovariectomizadas; TE: tiempo de enterramiento; LE: latencia de enterramiento

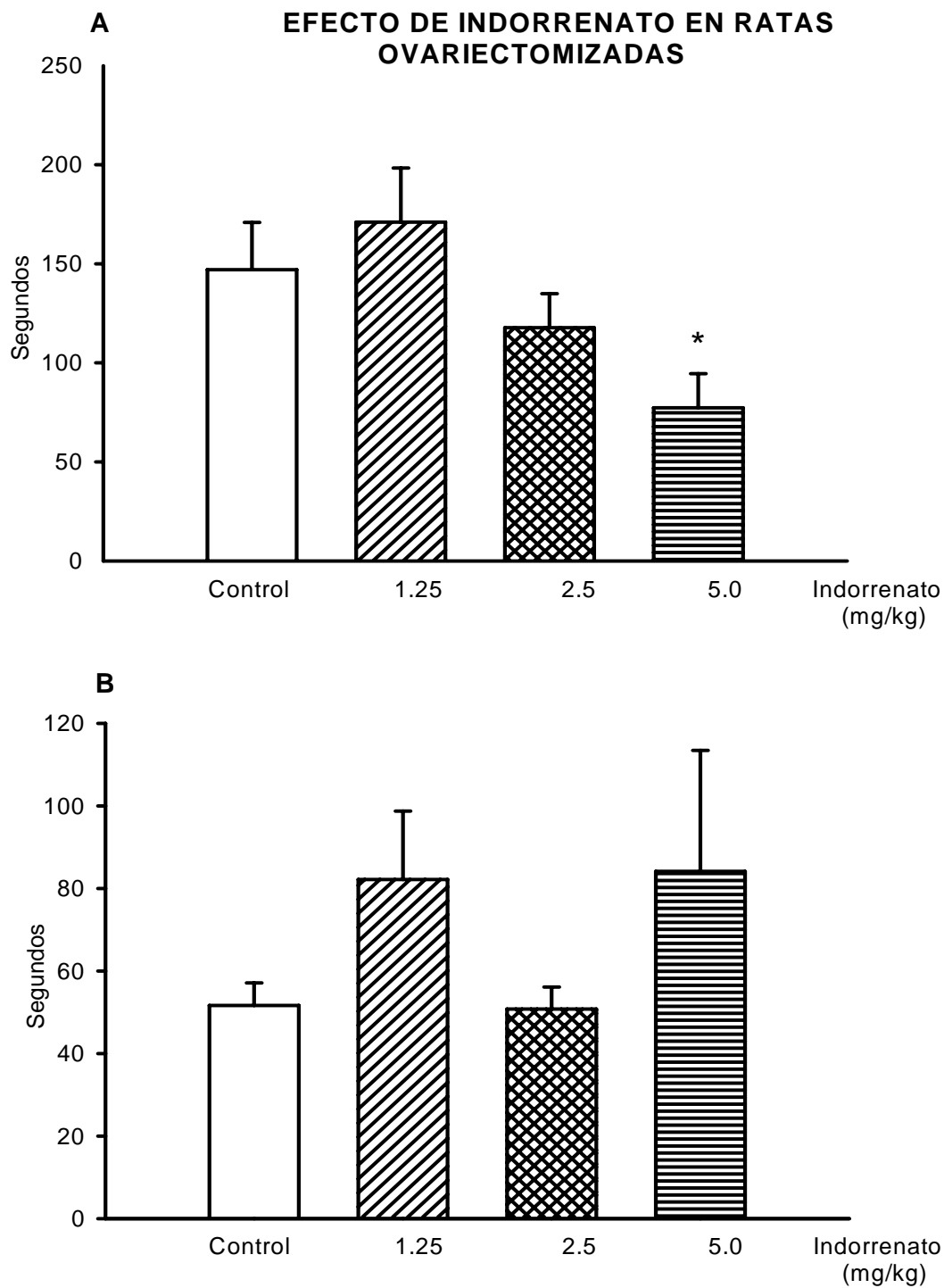
10.3 EFECTO DE FLUOXETINA E INDORRENATO EN RATAS OVARIECTOMIZADAS

En la Gráficas 1 y 2 se muestra el efecto de diferentes dosis de fluoxetina e indorrenato en la prueba de enterramiento defensivo. El tratamiento crónico con fluoxetina produjo una reducción dosis-respuesta del tiempo de enterramiento defensivo ($F_{3,42} = 6.46$, $p = 0.001$, panel A), que alcanzó la significancia estadística a 2.5 y 5 mg/kg, pero este tratamiento no modificó la latencia de enterramiento ($F_{3,42} = 1.48$, $p = 0.23$, panel B). Indorrenato generó una disminución del tiempo de enterramiento defensivo ($F_{3,35} = 2.92$, $p = 0.049$, panel A) que fue estadísticamente significativa a la dosis de 5.0 mg/kg; en cuanto a la latencia de enterramiento, no observamos diferencias estadísticamente significativas en este parámetro por efecto del indorrenato ($F_{3,35} = 1.48$, $p = 0.24$, panel B).

En la Tabla 3 se muestra el efecto de fluoxetina e indorrenato sobre el número de choques, los cuales no fueron modificados con estos tratamientos [ANDEVA de una vía para fluoxetina ($F_{3,42} = 0.23$, $p = 0.87$); para indorrenato ($F_{3,35} = 2.31$, $p = 0.095$)]. En la Tabla 4, se muestra el efecto de fluoxetina e indorrenato sobre la actividad ambulatoria; al analizar los resultados con ANDEVA de una vía no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con ninguno de los dos tratamientos, fluoxetina ($F_{3,42} = 1.46$, $p = 0.23$) o indorrenato ($F_{3,35} = 2.8$, $p = 0.056$).



Gráfica 1. Efecto de la fluoxetina en la prueba de enterramiento defensivo. Se muestran los resultados del tiempo de enterramiento (panel A) y de la latencia de enterramiento (panel B). Las gráficas muestran las medias \pm E.E. Los resultados de la prueba Dunnett fueron ** $p < 0.01$ vs el grupo control tratado con vehículo.



Gráfica 2. Efecto del indorrenato sobre el tiempo de enterramiento (A) y sobre la latencia de enterramiento (B). La figura muestra las medias \pm E.E. Los resultados de la prueba U de Mann-Whitney * $p < 0.05$.

Tabla 3. Efecto de los fármacos fluoxetina e indorrenato sobre el número de choques en la prueba de enterramiento defensivo con ratas ovariectomizadas.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	# de choques/10 min.
Vehículo (salina)	0.0	3.2 ± 0.25
Fluoxetina	1.25	3.4 ± 0.29
	2.5	3.6 ± 0.47
	5.0	3.5 ± 0.34
Indorrenato	1.25	3.9 ± 0.43
	2.5	2.6 ± 0.37
	5.0	3.1 ± 0.40

Resultados de ANDEVA en el texto.

Tabla 4. Efecto de fluoxetina e indorrenato sobre la actividad ambulatoria de ratas OVX.

Tratamiento	Dosis mg/kg	% de cambio
Vehículo (salina)		100 %
Fluoxetina	1.25	106.6
	2.5	106.69
	5.0	90.34
Indorrenato	1.25	112.88
	2.5	92.05
	5.0	89.27

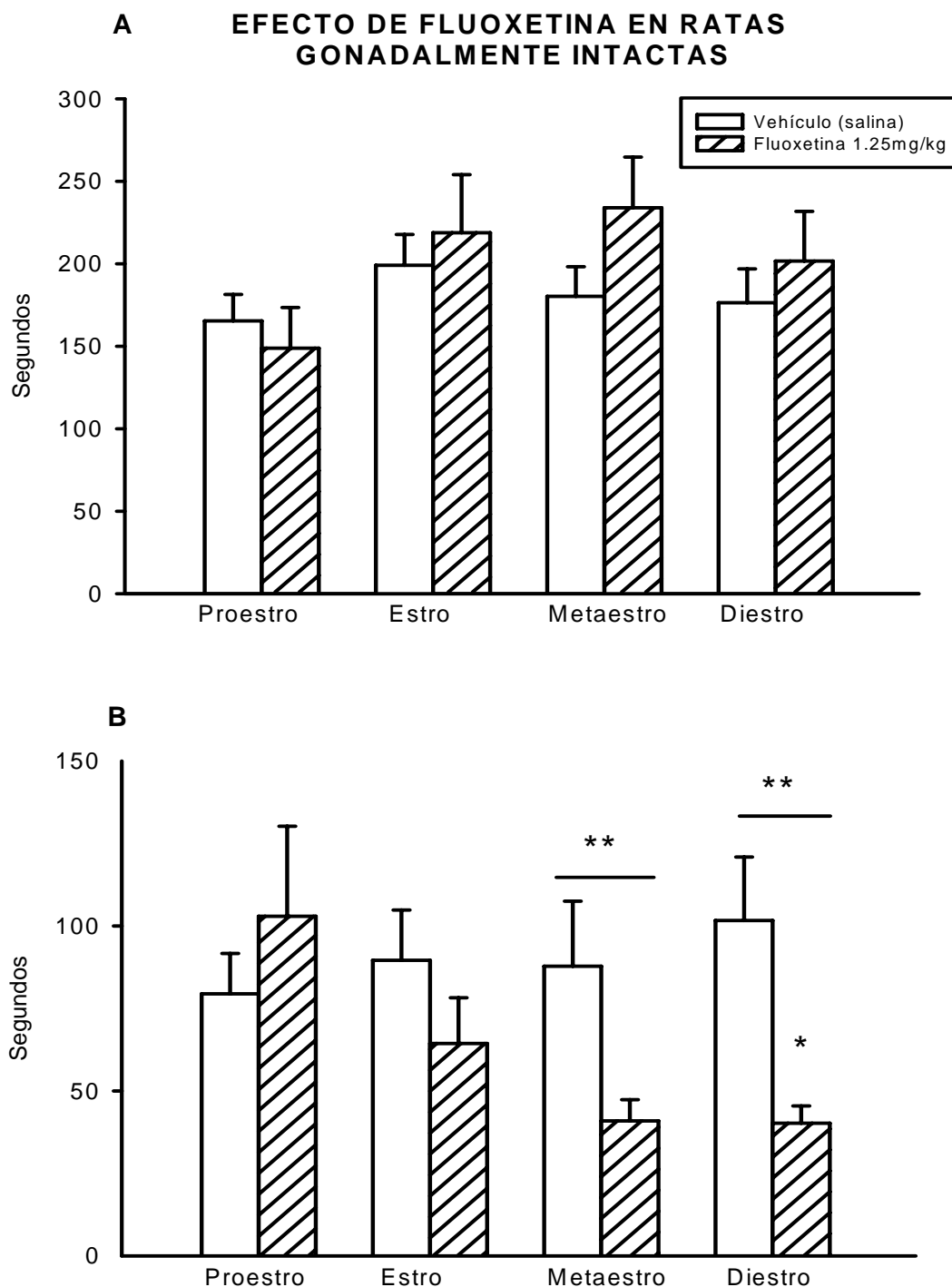
Los resultados se expresan como % de cambio respecto al grupo vehículo. Resultados de ANDEVA en el texto.

10.4 EFECTO DE FLUOXETINA E INDORRENATO EN RATAS GONADALMENTE INTACTAS

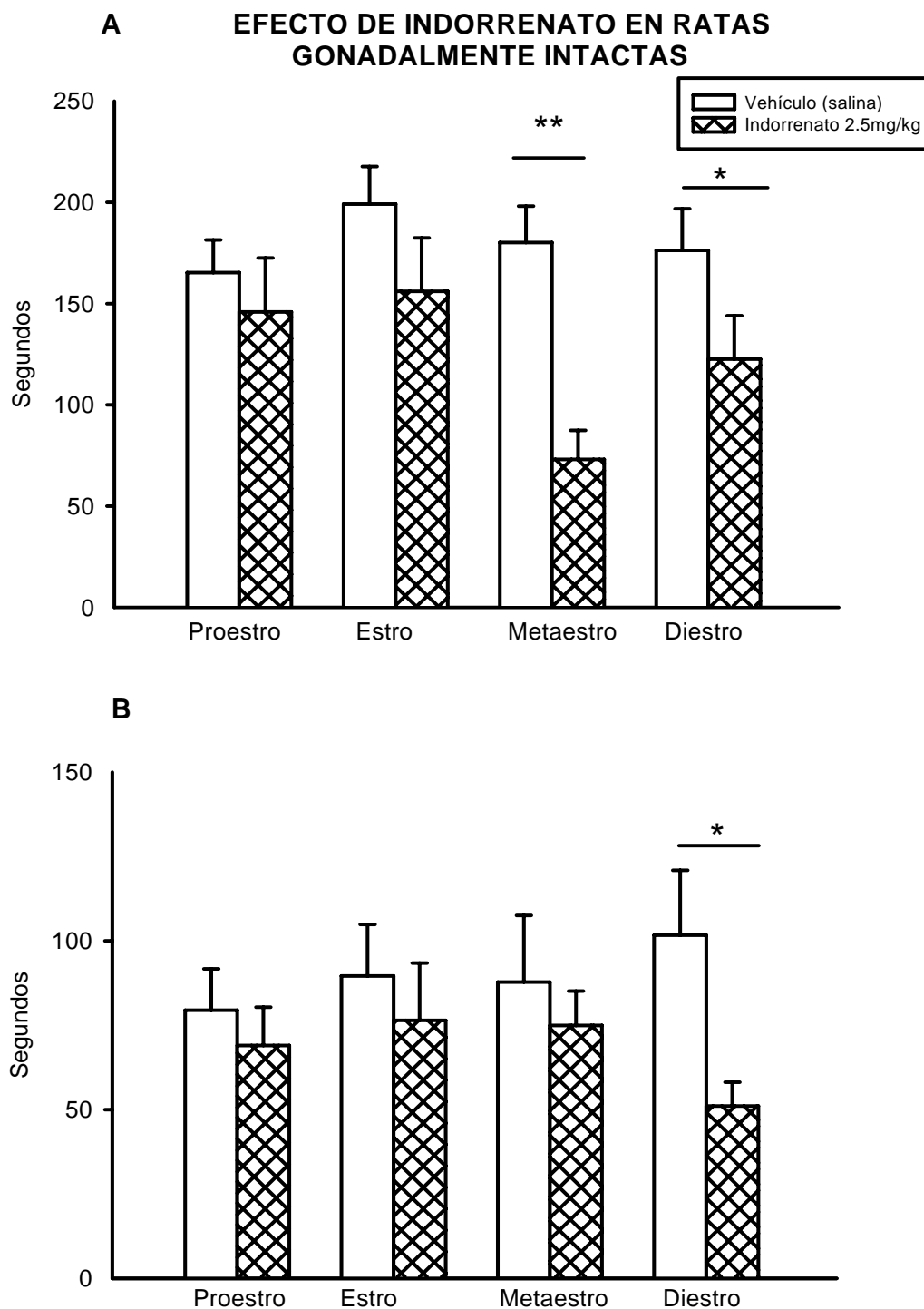
En la Gráfica 3 se muestra el efecto de una dosis sub-óptima de fluoxetina (1.25 mg/kg) en la prueba de enterramiento defensivo. En el tiempo de enterramiento defensivo (panel A) el ANDEVA de dos vías no mostró diferencias estadísticamente significativas [fase de ciclo ($F_{3,105}= 2.00$, $p= 0.119$), tratamiento ($F_{1,105}= 1.45$, $p= 0.23$) e interacción ($F_{3,105}= 0.71$, $p= 0.54$)]. Las comparaciones específicas tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de enterramiento. En cuanto a la latencia de enterramiento (panel B) el ANDEVA de dos vías mostró diferencias estadísticamente significativas por tratamiento [($F_{1,105}= 5.22$, $p= 0.024$) debido a que la fluoxetina produjo disminución en la latencia de enterramiento], pero no por otros factores [fase de ciclo ($F_{3,105} = 0.90$, $p = 0.44$) e interacción ($F_{3,105}= 2.45$, $p= 0.68$)]. Las comparaciones específicas mostraron disminución de la latencia en metaestro y diestro.

En la Gráfica 4 se muestra el efecto de una dosis sub-óptima de indorrenato (2.5mg/kg) en la prueba de enterramiento defensivo. En el tiempo de enterramiento defensivo (panel A) el ANDEVA de dos vías mostró diferencias estadísticamente significativas por el factor tratamiento [($F_{1,103}= 14.68$, $p < 0.001$)] pero no por otros factores [fase de ciclo ($F_{3,103}= 2.12$, $p= 0.10$) e interacción ($F_{3,103}= 1.55$, $p= 0.20$)]. La comparación de grupos pareados mostró que indorrenato produjo disminución del tiempo de enterramiento en las fases de metaestro y diestro. Al analizar la latencia de enterramiento (panel B), el ANDEVA de dos vías no mostró diferencias estadísticamente significativas [fase de ciclo ($F_{3,103}= 0.13$, $p= 0.93$), tratamiento ($F_{1,103}= 3.9$, $p= 0.05$) o interacción ($F_{3,103}= 0.86$, $p= 0.46$)]. La comparación de grupos específicos mostró una reducción de la latencia en el diestro.

En la Tabla 5 se muestra el efecto de fluoxetina (1.25 mg/kg) e indorrenato (2.5 mg/kg) en dosis sub-óptimas sobre el número de choques, en ratas gonadalmente intactas. El ANDEVA de dos vías no mostró diferencias estadísticamente significativas [fase de ciclo ($F_{3,150}= 2.3$, $p= 0.077$), tratamiento ($F_{2,150}= 0.55$, $p= 0.57$), e interacción ($F_{6,150}= 0.64$, $p= 0.65$)].



Gráfica 3. Efecto de fluoxetina a la dosis de 1.25mg/kg en la prueba de enterramiento defensivo. Los parámetros mostrados son el tiempo de enterramiento defensivo (panel A) y la latencia de enterramiento (panel B). La figura muestra las medias \pm E.E. Los resultados de la prueba U Mann-Whitney fueron * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.



Gráfica 4. Efecto del Indorrenato a la dosis de 2.5mg/kg en la prueba de enterramiento defensivo. Los parámetros mostrados son el tiempo de enterramiento defensivo (panel A) y la latencia de enterramiento (panel B). La figura muestra las medias \pm E.E. Los resultados de la prueba U Mann-Whitney fueron * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$.

Tabla 5. Efecto de fluoxetina e indorrenato sobre el número de choques de ratas gonadalmente intactas.

Tratamiento	Fase del ciclo	# de choques/10 min.
Vehículo	Diestro	3.80 ± 0.41
	Proestro	3.21 ± 0.43
	Estro	2.60 ± 0.32
	Metaestro	4.21 ± 1.07
Fluoxetina (1.25 mg/kg)	Diestro	4.07 ± 0.47
	Proestro	3.83 ± 0.32
	Estro	3.45 ± 0.39
	Metaestro	3.90 ± 0.58
Indorrenato (2.5 mg/kg)	Diestro	4.60 ± 0.38
	Proestro	3.37 ± 0.46
	Estro	3.36 ± 0.20
	Metaestro	3.50 ± 0.23

Resultados de ANDEVA en el texto.

En la Tabla 6 se muestra el efecto de fluoxetina (1.25 mg/kg) e indorrenato (2.5 mg/kg) en dosis sub-óptimas, sobre la actividad ambulatoria de ratas gonadalmente intactas. El ANDEVA de 1 vía no mostró diferencias estadísticamente significativas con ningún tratamiento: salina ($F_{4,66} = 1.63$, $p = 0.18$), fluoxetina ($F_{4,57} = 1.40$, $p = 0.25$), o indorrenato ($F_{4,55} = 1.03$, $p = 0.40$).

Tabla 6. Efecto de fluoxetina e indorrenato sobre la actividad ambulatoria de ratas gonadalmente intactas.

Tratamiento	Fase de ciclo	% de cambio
Vehículo	Proestro	101.40
	Estro	102.03
	Metaestro	127.12
	Diestro	109.25
Fluoxetina (1.25 mg/kg)	Proestro	107.61
	Estro	99.23
	Metaestro	82.76
	Diestro	102.83
Indorrenato (2.5 mg/kg)	Proestro	119.08
	Estro	101.83
	Metaestro	104.01
	Diestro	111.92

Los resultados se expresan como % de cambio respecto al grupo vehículo. Resultados de ANDEVA en el texto.

XI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados más importantes de este estudio fueron los siguientes: Los dos compuesto serotoninérgicos usados fueron efectivos para reducir la ansiedad en ratas ovariectomizadas, sin producir cambios en la reactividad de los animales, en la actividad ambulatoria y en el número de choques. La fluoxetina en dosis sub-umbral no produjo efecto ansiolítico en ratas intactas que fueron evaluadas en las diferentes fases del ciclo estral; sin embargo, este tratamiento aumentó la reactividad en la fase de metaestro y diestro. El indorrenato en dosis sub-umbral produjo efecto ansiolítico en ratas en las fases de metaestro y diestro, y aumentó la reactividad en la fase de diestro. Ambos tratamientos no produjeron cambios ni en la actividad ambulatoria ni en el número de choques en ratas en las diferentes fases del ciclo estral.

El modelo de enterramiento defensivo es una prueba que evalúa una conducta que presentan los roedores ante situaciones adversas, como por ejemplo, la presencia de un predador, o en el caso experimental, la estimulación aversiva por medio de choques eléctricos (Pinel y Treit, 1978). Este modelo es sensible al efecto de fármacos ansiolíticos del tipo de las benzodiazepinas, así como a otros compuestos que producen acción ansiolítica en el humano (Treit, 1994). La prueba de enterramiento también es sensible a variaciones fisiológicas, por ejemplo, a cambios en la concentración de hormonas gonadales, y en la nocicepción (Bitran y cols., 1991; Paez-Martínez y cols., 2003). Con los resultados de nuestro estudio podemos afirmar que el tipo de administración que recibieron las ratas no fue un factor que modificó la conducta en la prueba de enterramiento, por lo tanto, los cambios significativos se produjeron en respuesta a los factores estudiados, por ejemplo, la influencia hormonal o el fármaco administrado.

Diversos estudios han demostrado que el modelo de enterramiento defensivo es sensible a variaciones endocrinas, por ejemplo, las características de las fases del ciclo estral, la gestación y la lactancia (Picazo y Fernández-Guasti, 1993). En nuestro estudio no encontramos diferencias ni en el tiempo de enterramiento ni en la reactividad a los choques entre ratas ovariectomizadas (tratadas con vehículo) y las evaluadas por fase de ciclo. La falta de efecto ansiolítico en la fase de proestro contrasta con resultados de un estudio previo (Fernández-Guasti y Picazo, 1990) que demostró una reducción del tiempo de enterramiento en ratas en proestro tardío en comparación con ratas ovariectomizadas. La diferencia en el tipo de respuesta se debe a que nosotros realizamos el registro conductual en la etapa de proestro temprano, entre 10:30 a 14:00 hrs., cuando los niveles de progesterona son mínimos (ver Figura 10). Aunque en este periodo existe un pico en la

concentración de estrógenos, se ha demostrado que esta hormona no produce efecto ansiolítico en el modelo de enterramiento defensivo (Fernández-Guasti y cols., 2002).

Además de las benzodiazepinas, que son considerados los ansiolíticos clásicos, numerosos compuestos experimentales han sido evaluados en la prueba de enterramiento defensivo, por ejemplo, agonistas del receptor 5-HT_{1A}, hormonas esteroides e ISRS; estos estudios se han realizado en ratas macho (López-Rubalcava y cols., 1994; Martínez-Mota y cols., 2000), con el fin de evitar las fluctuaciones hormonales que caracterizan al ciclo reproductivo de las hembras. Sin embargo, trabajos previos indican que el efecto de ansiolíticos como el diazepam y la desmetilimipramina se modifica por influencia de la condición endocrina en hembras (Fernández-Guasti y cols., 1999; Fernández-Guasti y cols., 2002). Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de ansiolíticos serotoninérgicos en ratas hembra en diferentes condiciones endocrinas. En primer lugar, estudiamos el efecto de indorrenato, un agonista total del receptor 5-HT_{1A}, y de la fluoxetina, un fármaco antidepresivo que inhibe la recaptura de serotonina. En ratas hembra ovariectomizadas, el indorrenato disminuyó la conducta tipo ansiedad, sin modificar la reactividad ni la actividad ambulatoria. La fluoxetina produjo un efecto semejante, aunque de tipo dosis-respuesta para el caso de la conducta ansiolítica. De esta manera podemos afirmar que estos fármacos, además de ser antidepresivos (Stahl, 2000), también poseen propiedades ansiolíticas en las hembras aun cuando tengan niveles mínimos de hormonas esteroides (por castración).

Datos de la literatura indican que los estrógenos y la progesterona incrementan el efecto ansiolítico de la desmetilimipramina (Fernández-Guasti y Picazo, 1990; Fernández-Guasti y cols., 2002). En el presente trabajo encontramos que el indorrenato a una dosis inefectiva produce una disminución de los niveles de ansiedad principalmente en las fases del metaestro y diestro, junto con un aumento en la reactividad en la fase del diestro. Se sabe que en estas dos fases del ciclo los niveles de estradiol y progesterona están disminuidos (ver Figura 10), por lo que podemos decir que el efecto del tratamiento fue más evidente en las condiciones donde hay bajos niveles hormonales, por ejemplo en ratas ovariectomizadas y en ratas en diestro y metaestro. Estos resultados difieren moderadamente de los encontrados por Fernández-Guasti y cols. (1990), ya que ellos no encuentran variaciones por fase de ciclo en el efecto ansiolítico de indorrenato. En relación a la reactividad de los animales, indorrenato en dosis sub-óptima disminuyó la latencia de enterramiento en ratas en diestro, lo que se interpreta como un aumento de la reactividad de los animales. En general, se espera que un fármaco con actividad ansiolítica produzca cambios en la ansiedad sin modificar la reactividad, por lo que podríamos considerar que el efecto del indorrenato

en ratas en diestro tiene un componente inespecífico. Las razones por las que indorrenato produce este tipo de efecto en ratas en diestro son desconocidas, por lo que hacen falta más experimentos para analizar el mecanismo que subyace a este tipo de respuesta.

La facilitación del efecto ansiolítico de indorrenato en metaestro puede ser debida a cambios en la sensibilidad de los receptores 5-HT_{1A}, sitio blanco para indorrenato, provocados por las variaciones en la concentración de estradiol y/o progesterona asociadas al ciclo reproductivo de la hembra. Datos de la literatura sugieren que estas hormonas gonadales desensibilizan a los receptores 5-HT_{1A} somatodendríticos (Raap y cols., 2000), por lo que esperaríamos que el efecto de un agonista de los receptores 5-HT_{1A}, como el indorrenato, fuera de menor magnitud en fases del ciclo con bajos niveles de hormonas gonadales. Los estrógenos desensibilizan a los receptores 5-HT_{1A} (Raap y cols., 2000) y esto podría explicar que durante el proestro no hubo facilitación del efecto ansiolítico de indorrenato.

Existe una relación estrecha entre los niveles de hormonas gonadales y la transmisión serotoninérgica. Lakoski en 1988, comprobó que un tratamiento con estrógenos a ratas ovariectomizadas disminuye la capacidad del agonista del receptor 5-HT_{1A}, el 8-OH-DPAT, para reducir el disparo de neuronas 5-HT en el núcleo dorsal del rafe, sugiriendo que los estrógenos podrían desensibilizar a los autorreceptores 5-HT_{1A}. En esta misma línea de evidencias, Uphouse reportó que la hiperfagia estimulada por 8-OH-DPAT fue mayor en machos y en hembras en diestro, y menor en hembras ciclantes en proestro y estro, sugiriendo que los estrógenos y/o la combinación de éstos con progesterona atenúan la respuesta de hiperfagia producida por la estimulación de los receptores 5-HT_{1A}. A su vez, Maswood en 1999, reportó que la combinación de estradiol y progesterona atenúa el efecto del 8-OH-DPAT sobre la tasa de 5-HIAA/5-HT (metabolito/precursor). Estas evidencias apoyan nuestros resultados conductuales, ya que el efecto ansiolítico del indorrenato fue observado en ratas ovariectomizadas, y facilitado en ratas intactas en fases del ciclo con bajos niveles de estradiol y/o progesterona.

Por otro lado, Van de Kar y cols. (2000) reportaron que el tratamiento crónico con fluoxetina también produce desensibilización de los receptores hipotalámicos 5HT_{1A}, sin alterar la densidad o la afinidad de estos receptores (Raap y cols., 2000). Esta desensibilización de los receptores 5-HT_{1A} parece mediar el efecto de fluoxetina como antidepresivo y ansiolítico. El incremento en la concentración plasmática de estrógenos, ya sea de forma espontánea en ratas ciclantes, o por la

administración de estradiol, favorece la desensibilización (Raap y cols., 2000; Van de Kar y cols. 2002), y en consecuencia, podría facilitar el efecto de fluoxetina en hembras, como se propone en artículos conductuales (Estrada-Camarena y cols, 2003; 2004; 2006). Se piensa que la combinación de estrógenos y fluoxetina podrían actuar sinérgicamente a través de mecanismos complementarios, como la desensibilización de receptores post-sinápticos 5HT_{1A} por cambios en el acoplamiento a proteínas G (Raap y cols., 2000). En nuestro trabajo encontramos que el efecto ansiolítico de fluoxetina en una dosis sub-óptima, 1.25 mg/kg, no se facilitó en las ratas en proestro. Esta aparente contradicción podría deberse al uso de una dosis baja de fluoxetina (1.25 mg/kg), en contraste con otros estudios que usan hasta 10 mg/kg. Esta interpretación se sostiene con los resultados de la latencia de enterramiento, que indican que la dosis de fluoxetina fue insuficiente para reducir la latencia. Por lo que es necesario hacer otro experimento que incluya una dosis más alta del ISRS para comprobar si hay una interacción entre el tratamiento y la fase del ciclo.

Podemos decir también que la falta de efecto de la fluoxetina no fue debida a la irregularidad del ciclo estral, ya que trabajos pasados reportaron que un tratamiento diario con fluoxetina (10 mg/kg) no modifica la ciclicidad hormonal (Vega-Matuszczyk y cols., 1998; Van de Kar y cols. 2002)

La desensibilización de los receptores pos-sinápticos 5-HT_{1A} representan un posible mecanismo responsable del efecto terapéutico de los ISRS para muchos de los desordenes psiquiátricos en los cuales se ha probado este fármaco (ansiedad, TOC y SPM). Esta desensibilización de receptores 5-HT_{1A} es más significativa también en humanos del sexo femenino, explicando por que los ISRS son más efectivos en mujeres que en hombres.

Los resultados obtenidos en los experimentos de esta tesis, nos permitieron conocer las variaciones conductuales producidas por la interacción de los fármacos serotoninérgicos con las hormonas ováricas a lo largo del ciclo estral de la rata, en la ansiedad. Se observó, que los niveles más bajos de hormonas favorecieron la disminución de la ansiedad experimental empleando un agonista del receptor 5-HT_{1A}, lo que no ocurrió así con el ISRS, que en ninguna de las fase del ciclo estral produjo efecto ansiolítico.

La importancia de este estudio radica en ayudar a comprender, por un lado, las variaciones de la respuesta a fluoxetina en mujeres que padecen ansiedad pero que tienen diferente status hormonal dependiente de la edad, y por otro lado, aportar evidencia sobre la posible efectividad del indorrenato como un ansiolítico para mujeres con SPM o TDPM.

XII. CONCLUSIONES

- ✓ La fluoxetina y el indorrenato, produce efecto tipo ansiolítico en ratas hembra ovariectomizadas.
- ✓ El indorrenato fue más efectivo que fluoxetina para reducir la ansiedad en ratas gonadalmente intactas pero con bajos niveles de hormona gonadales.
- ✓ La fluoxetina no fue efectiva para reducir los niveles de ansiedad experimental en ninguna de las fases del ciclo estral.
- ✓ El efecto tipo ansiolítico de los compuestos no se debió a cambios en la reactividad, en la nocicepción ni a la actividad motriz.

XIII. PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos de fluoxetina, en los cuales no se encontró un efecto ansiolítico en ninguna de las fases del ciclo estral, pudieron deberse a que la dosis del fármaco fue muy baja, por lo que se propone analizar una dosis más alta, así como analizar el efecto del tratamiento en el proestro tardío. Esta fase se diferencia del proestro temprano por una mayor concentración de progesterona, por lo tanto, podríamos esperar una interacción diferente entre fluoxetina y la fase. En relación al indorrenato resulta interesante analizar la participación exacta del estradiol y progesterona como posibles mediadores del efecto del indorrenato.

El sistema serotoninérgico central sigue siendo blanco de interés ya que sus alteraciones subyacen algunos signos y síntomas de los trastornos psiquiátricos asociados al ambiente hormonal. Por ello, es necesario crear nuevas combinaciones de fármacos o sintetizar nuevas moléculas que produzcan el efecto terapéutico deseado (por ejemplo, reducción del estado ansioso) sin los efectos secundarios o adversos. Es decir, sería ideal sintetizar otra molécula que lograra acortar la latencia de efecto terapéutico, o estimular la síntesis de neuroesteroides, además de facilitar la transmisión serotoninérgica central.

XIV. BIBLIOGRAFÍA

Baldessarini, R.U. (1996), **Fármacos y tratamiento para trastornos psiquiátricos (psicosis y ansiedad)**. En las bases farmacológicas de la terapéutica de Goodman and Gilman, 9ª ed. 18: 423-489.

Barnes, N.M., Sharp, T. (1999), **A review of central 5-HT receptors and their function**. Neuropharmacology, 38: 1083-1152.

Benitez, K.G., Antón, T.F., and Hong, E. (1991), **Characterization of indorenate effects on brain monoamine metabolism**. Drug Development Research. 23: 325-331.

Bitran, D., Hilvers, R.J. y Kellogg, C.K., (1991), **Ovarian endocrine status regulates the anxiolytic potency of diazepam and the efficacy of gamma-aminobutyric acid-benzodiazepine receptor-mediated chloride ion transport**. Behavioral Neuroscience 105: 653-662.

Brown, M.A. y Zimmer, P.A. (1986), **Personal and family impact of premenstrual symptoms**. Journal Obstetrician Gynecol Neonatal Nurs. 15: 31-38.

Caba, M. y Centeno, M.L. (2002), **Ovulación refleja en la coneja**. Neuroetología: La década del cerebro y la conducta animal de Manzo, J.D. Universidad Veracruzana, Xalapa, 1: 13-18.

Castillo, C., Ibarra, M., Terrón, J.A., Villalón, C.M y Hong, E. (1994), **Direct effects of indorenate and 8-OH-DPAT on the blood pressure of pithed rats**. Drug Develop. Res. 33: 20-25.

Charney, D.S., Drevets, W.C. (2002), **Neurobiological basis of anxiety disorders**. Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress. 63: 901-930.

Contreras, C.M., Rodríguez-Landa, J.F. y Gutiérrez-García, A.G. (2002), **Estrés psicosocial: Repercusiones neurales e implicaciones farmacológicas**. Neuroetología: La década del cerebro y la conducta animal de Manzo, J.D. Universidad Veracruzana, Xalapa, 18: 267-272.

Corsi, C.M. (2003), **El electroencefalograma y la ansiedad: diferencias sexuales**. Ciencia, revista de la Academia Mexicana de Ciencia, Vol.54, No.2, 40-51.

Davis-Michael, (1992), **The role of amygdala in fear and anxiety**. *Annu. Rev. Neurosci.* 15:352-375.

Davis-Michael, (2002), **Neural circuitry of anxiety and stress disorders**. *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress.* 64: 931- 951.

De Boer, S.F., Koolhaas, J.M. (2002), **Defensive burying in rodents: ethology, neurobiology and psychopharmacology**. *European Journal of Pharmacology* 463: 145-161.

Endicott, J., Halbreich, U. (1988), **Clinical significance of premenstrual dysphoric changes**. *Journal Clinic Psychiatry*, 49: 486-489.

Estrada-Camarena, E., Fernández, G.A. y López, R.C. (2003), **Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in the forced swimming test**. *Neuropsychopharmacology.* 28(5): 830-838.

Estrada-Camarena, E., Fernández, G.A. y López, R.C. (2004), **Interaction between estrogens and antidepressants in the forced swimming test in rats**. *Psychopharmacology.* 173(1-2): 139-145.

Estrada-Camarena, E., López, R.C., y Fernández, G.A. (2006), **Facilitating antidepressant-like actions of estrogens are mediated by 5-HT_{1A} and estrogen receptors in the rat forced swimming test**. *Psychoneuroendocrinology*, 31(8): 905-914.

Fernández-Guasti, A., Estrada, C.E. y Martínez, M.L. (2002), **Interacción de hormonas esteroideas con psicofármacos**. En *Neuroetología: la década del cerebro y la conducta animal*, Manzo, J.D., Universidad Veracruzana, Xalapa, 13: 193-205.

Fernández-Guasti, A., López, R.C., Pérez, U.J. y Castañeda, H.G. (1991), **Evidence for a postsynaptic action of the serotonergic anxiolytics: Ipsapirone, Indorrenate and Buspirone**. *Brain ressearch bulletin.* Vol. 28, 497- 501.

Fernández-Guasti, A., Martínez, M.L., Estrada, C.E., Contreras, C.M., y López, R.C. (1999), **Chronic treatment with desipramine induces an estrous cycle-dependent anxiolytic-like action in burying behavior, but not in the elevated plus-maze test**. *Pharmacol. Biochem. And Behav.* Vol.63, No.1, 13-20.

Fernández-Guasti, A. y Picazo, P.O. (1990), **The actions of diazepam and serotonergic anxiolytics vary according to the gender and the estrous cycle phase.** Pharmacology Biochemistry and Behavior, Vol. 37, 77-81.

Fernández-Guasti, A. y Picazo, P.O. (1992), **Changes in burying behavior during the estrous cycle: effect of estrogen and progesterone.** Psychoneuroendocrinology, Vol.17, No.6, 681-689.

Fernández-Guasti, A y Picazo, P.O. (1995), **Flumazenil blocks the anxiolytic action of allopregnanolone.** European Journal of Pharmacology. 281, 113-115.

Ferreira, A. (2003), **Trastornos afectivos en la lactancia.** Ciencia, Revista de la Academia Mexicana de Ciencia. Vol.54, No.2, 60-66.

Flores-Ramos, M., Ontiveros, U.M., Cortés, S.J. (2003), **Comparación entre el tratamiento continuo y el intermitente con citalopram para trastorno disfórico premenstrual.** Salud mental, Vol. 26, No. 3, 37-46.

Freeman, M.E. (1988), **The ovarian cycle of the rat.** In: The physiology of reproduction. Knobil, E. y Neill, J. eds. Raven Press. New York, 1893-1928.

Freeman, E.W., Sondheimer, S.J., Weinbaum, PH, et al. (1985), **Evaluating premenstrual symptoms in medical practice.** Obstetricia Gynecology. 65: 500-505.

Freeman, E.W., Sondheimer, S.J. (2003), **Premenstrual dysphoric disorder: recognition and treatment.** Primary care companion, Journal Clinic Psychiatry, 5: 30-39.

Goldfien, A. MD. (2002), **Ovarios.** Greenspan, S.F., Gardner, G.D. Endocrinología Básica y Clínica. 5ª ed. 13: 503-524.

Gómez, C., Saldívar, G. J.A, Rodríguez, R. (2002), **Modelos animales para el estudio de la ansiedad: una aproximación crítica.** Salud Mental, Vol. 25, No.1, 14-24.

Guyton, C.A. (1986), **Tratado de fisiología médica.** 7ª ed. Mc. Grw Hill. 81: 959-973.

Haefely, W.E. (1989), **Pharmacology of the benzodiazepine receptor**. Eur. Arch. Psychiat. Neurol. Sci. 238: 294-301.

Halbreich, U. (1997), **Hormones as treatments, Hormonal intervention with psychopharmacological potential: an overview**. Psychopharmacology Bulletin, 33(2): 281-286.

Halbreich, U., O'Brien, P.M., Eriksson, E., Backstrom, T., Yonkers, K.A. and Freeman, E.W. (2006), **Are there differential symptoms profiles that improve in response to different pharmacological treatment of premenstrual syndrome/premenstrual disorder?** CNS Drugs, 20(7): 523-547.

Hamilton, J.A., Parry, B.L. y Blumenthal, S.J. (1988), **The menstrual cycle in context, I: Affective syndromes associated with reproductive hormonal changes**. Journal Clinic Psychiatry. 49: 474-480.

Handley, S.L. (1991), **Serotonin in animal models of anxiety: the importance of stimulus and response**. In: Serotonin, sleep and mental disorders. Idzikowski, C. Cowen, P.J. (Eds) Wighston Biomedical Publishing. 89-115.

Harvey, H.F. (1981), **Estrous cyclicity in mammals**. Adler, N.T. In Neuroendocrinology of Reproduction: Physiology and Behaviour, P. Press. N.Y., 10: 279-307

Heinze, G. (2003), **La ansiedad: cómo se la concibe actualmente**. Ciencia, revista de la Academia Mexicana de Ciencia, V.54 No.2, 8-15.

Hong, E., Castillo, C. Y Marquez, J.A. (1989), **Interaction between several S_{1A} and alfa₁ agonist on rabbit aortic rings**. Proc. West. Pharmacol. Soc. 32: 235-237.

Janowski, D.S., Halbreich, U. y Rausch, J. (1996), **Association among ovarian hormones, other hormones, emotional disorders and neurotransmitters**. Jensvold, M.F., Halbreich, U. y Hamilton, J.A. In Psychopharmacology and woman, sex, gender and hormones. American Psychiatric Press, 5: 85-106.

Jensvold, M.F., Plaut, V.C., Rojanski, N., Crenshaw, T.L y Halbreich, U. (1996), **Sexual side effects of psychotropic drugs in women and men.** Jensvold, M.F., Halbreich, U. y Hamilton, J.A. In Psychopharmacology and woman, sex, gender and hormones. American Psychiatric Press, 16: 323-368.

Kandel, R.E. (2000), **Trastornos del estado de ánimo, depresión, manía y trastornos de ansiedad.** Kandel, R.E., Schwartz, H.J. y Jesell, T.M. Principios de Neurociencias 4ª ed. 61: 1209-1226.

Lakoski, J.L. (1988), **Estrogen-induced modulation of serotonin 5-HT_{1A} mediated responses in the dorsal raphe nucleus (DRN).** Pharmacologist. 30: A126-128.

Lister, R.G. (1991), **Ethologically based animal models of anxiety disorders.** International encyclopedia of pharmacology and therapeutics, Psychopharmacology of anxiolytics and antidepressants. 7: 155-185.

López-Ibor Aliño J.J. (2003), **DSM-IV-TR Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales,** Massun., 477-490, 858-860.

López-Rubalcava, C., Saldívar, A. y Fernández-Guasti, A. (1992), **Interaction of GABA and serotonin in the anxiolytic action of diazepam and serotonergic anxiolytics.** Pharmacology Biochemistry and Behavior. Vol.43, 433-440.

López-Rubalcava, C., Picazo, P.O., Fernández, G.A. y Enríquez, V.P., (1994), **Caracterización de la actividad ansiolítica de los agentes serotoninérgicos ipsapirona y 8-OH-DPAT.** Anales del Instituto de Psiquiatría. 146- 153.

Mansour, A., Meador-Woodruff, J.H, López, J.F. y Watson, S.J. (1998), **Biochemical anatomy: Insights into the cell biology and pharmacology of the dopamine and serotonin systems in the brain.** Schatzberg, A. Nemeroff, Ch.B. Textbook of Psychopharmacology. American Psychiatric Press, 3: 55-71.

Martínez-Mota, L., Estrada, C.E., López, R.C., Contreras, C.M., and Fernández-Guasti, A. (2000) **Interaction of desipramine with steroid hormones on experimental anxiety.** Psychoneuroendocrinology. 25(2): 109-120.

- Marván, M.L. y Contreras, C. (1993), **El síndrome premenstrual**. Salud Mental, V.16, No. 1: 33-37.
- Majewska, M.D., Bisslerbe, J.C. and Eskay, R.L. (1985), **Glucocorticoids are modulators of GABAA receptors in brain**. Brain Res. 339(1): 178-182.
- Maswood, S., Truitt, W., Hotema, M., Caldarola, P.M. and Uphouse, L. (1999), **Estrous cycle modulation of extracellular serotonin in mediobasal hypothalamus: role of the serotonin transporter and terminal autoreceptors**. Brain Research 831: 146-154.
- Mitwally, M.F., Kahn, L.S., Halbreich, U. (2002), **Pharmacotherapy of premenstrual syndrome and premenstrual dysphoric disorder: current practices**. Gynecology and Obstetrics, 3(11): 1577-1590.
- Molina, H.M. y Téllez, A.N. (2002), **Sistema Límbico y el miedo psicopatológico**. En Neuroetología: la década del cerebro y la conducta animal, Manzo, J.D., Universidad Veracruzana, Xalapa, 2: 27-42.
- Musselman, D.L., DeBattista, Ch., Nathan, K.I., Kilts, C.D., Schatzberg, A.F. y Nemeroff, Ch.B. (1998), **Biology of mood disorders**. Schatzberg, A. Nemeroff, Ch.B. Textbook of Psychopharmacology. American Psychiatric Press, 27: 549-575.
- Northrup, C. (2002), **The wisdom of menopause**. Bantam Books, N.Y., 68-74 y 172- 176.
- Nutt, D.J y Glue, P. (1991), **Pharmacology of anxiolytics and antidepressants: a psychopharmacological perspective**. In International encyclopedia of pharmacology and therapeutics, Psychopharmacology of anxiolytics and antidepressants. 1: 1-28.
- Paez-Martínez, N., Cruz, S.L. y López, R.C., (2003) **Comparative study of the effects of toluene, benzene, 1,1,1-trichloroethane, diethyl ether and flurothyl on anxiety and nociception in mice**. Toxicology Appl Pharmacol. 193 (1): 9-16.
- Pérez de la Mora, M. (2003), **Dónde y cómo se produce la ansiedad: sus bases biológicas**. Ciencia, Revista de la Academia Mexicana de Ciencia, V.54 No.2, 16-28.

- Picazo, P.O., y Fernández, G.A. (1992), **¿Tiene actividad ansiolítica los esteroides 17- β -estradiol y la progesterona? Una evaluación en ratas ovariectomizadas.** Anales del Instituto Mexicano de Psiquiatría. 160-164.
- Picazo, P.O., y Fernández, G.A. (1993), **Changes in experimental anxiety during pregnancy and lactation.** Physiol. Behav. 54, 295.
- Picazo, P.O., y Fernández, G.A. (1995), **Anxiety effects of progesterone and some of its reduced metabolites; and evaluation using the buryin behavior test.** Brain Res. 680, 135.
- Pinel, J.P y Treit, D. (1978), **Burying as a defensive response in rat.** J. Comp. Physiol. Psychol. 92: 708-712.
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., et al. (2001), **Invitación a la neurociencia.** Ed. Panamericana, 1: 1-36; 6: 109-130.
- Raap, D.K., DonCarlos, L., García, F., Muma, N.A., Wolf, W.A., Bataglia, G. and Van de Kar, L.D. (2000), **Estrogen desensitizes 5-HT_{1A} receptors and reduces levels of G_Z, G_{II} and G₁₃ proteins in the hypothalamus.** Neuropharmacology 39: 1823-1832.
- Rapkin, A.J., Mikacich, J.A. (2006), **Premenstrual syndrome in adolescents: diagnosis and treatment.** Pediatr. Endocrinol. Rev. 3 suppl, 1:132-137.
- Redmond, D.E., y Huang, Y.H. (1979), **Current concepts II: New evidence for the locus coeruleus-norepinephrine connection with anxiety.** Life Sci. 25: 2149-2162.
- Riezen, H.V. y Leonard, B.E. (1991), **Effects of psychotropic drugs on the behavior and neurochemistry of olfactory bulbectomized rats.** In International encyclopedia of pharmacology and therapeutics, Psychopharmacology of anxiolytics and antidepressants. 10: 231-250.
- Rubinow, R.D., Schmidt, J.P. (1995), **The treatment of premenstrual syndrome-forward into the past.** N.Engl. Journal Medical. 332: 1574-1575.

Rubinow, R.D. y Schmidt, J.P. (2003), **Menstrual cycle-related and perimenopause-related affective disorders.** Eds. Owen, M., Wolkowitz, M.D., Rothschild, J.A. Psychoneuroendocrinology, the Scientific Basis of Clinical Practice. 10: 245-277.

Rupprecht, R. (2003), **Neuroactive steroids: mechanisms of action and neuropsychopharmacological properties.** Psychoneuroendocrinology. 28: 139-168.

Sanders. B.E. y Mayers, S.E. (1996), **Agonistas y antagonistas de los receptores de 5-hidroxitriptamina.** En las bases farmacológicas de la terapéutica de Goodman and Gilman, 9ª ed. 11: 265-280.

Stahl, S.M. (1998), **Basic Psychopharmacology of antidepressants, Part 1: Antidepressants have seven distinct mechanisms of action.** Journal Clinic Psychiatry, 59 (suppl 4): 5-14.

Stahl, S.M. (2000), **Anxiolytics and sedative-hypnotics.** Essential Psychopharmacology 2ed. 6: 222-235 y 8: 297-317.

Steiner, M., Lamont, J., Steinberg, S. y cols. (1997), **Effect of fluoxetine o menstrual cycle length in women with premenstrual dysphoria.** Obstetrics and Gecology, 90: 590-595.

Steiner, M. (1997), **Premenstrual syndromes.** Annual reviews medical. 48: 447-455.

Steiner, M., Romano, S.J., Babcock, S., Dillon, J. y cols. (2001), **The efficacy of fluoxetina in improving physical symptoms associated with premenstrual dysphoric disorder.** British Journal of Obstetrics Gynaecology, 108: 462-468.

Sundbland, C., Modigh, K. Andersch, B., Eriksson, E. (1992), **Clomipramine effectively reduces premenstrual irritability and dysphoria: a placebo controlled trial.** Acta Psychiatric, Scand. 85: 39-47.

Tallman, J.F., Cassella, J., Kehne, J. (2002), **Mechanism of action of anxiolytics.** Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress. 68: 994-1015.

Treit, D. (1985), **Animal models for the study of antianxiety agents: a review.** Neuroscience Biobehavior Rev. 9: 203-222.

Treit, D. (1994), **Animal models of anxiety and anxiolytic drug action**. In: Handbook of depression and anxiety. A biological approach. De Boer JA, AD Sitsen AD (Eds). Marcel Dekker Inc., 201-224.

Treit, D., Pesold, C., and Rotzinger, S. (1993), **Dissociating the anti-fear effects of septal and amygdaloid lesions using two pharmacologically validated models of rat anxiety**. Behavioral Neuroscience. Vol.107, No.5, 770-785.

Vademecum Farmacéutico, 10ª ed. 2001.

Van de Kar, L.D., Raap, D.K., Battaglia, G., Muma, N.A., y cols. (2002), **Treatment of cycling female rats with fluoxetine induces desensitization of hypothalamic 5-HT_{1A} receptors with no change in 5-HT_{2A} receptors**. Neuropharmacology 43: 45-54.

Vega-Matuszczyk, Larsson, K. y Eriksson, E. (1998), **Subchronic administration of fluoxetine impairs estrous behavior in intact female rats**. Neuropsychopharmacology, Vol. 19, No. 6, 492-498.

Watson, N.R., Studd, J.W., Savvas, M. (1989), **Treatment of several premenstrual syndrome with estradiol patches and cyclical oral norethisterona**. Lancet 2: 730-732

Yonkers, K.A. and Ellison, J.M. (1996), **Anxiety disorders in women and their pharmacological treatment**. Jensvold, M.F., Halbreich, U. y Hamilton, J.A., Eds. In Psychopharmacology and woman, sex, gender and hormones. American Psychiatric press. 13: 261-286.