



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Efecto del inhibidor de la aromatasa formestano en la
acción antidepresiva de fluoxetina en ratas hembra**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

SHARON LIZETH ISLAS HERNÁNDEZ



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. LUCÍA ALBA MARTÍNEZ MOTA

Ciudad Universitaria, CDMX, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Resumen

La depresión es un trastorno de la salud mental que se caracteriza por tristeza, anhedonia, pérdida de interés, baja autoestima, trastornos del sueño o del apetito. Este trastorno se presenta en mayor proporción en mujeres que en hombres; a su vez, los antidepresivos que bloquean la recaptura de la serotonina (SSRIs, por sus siglas en inglés) muestran ser más efectivos en mujeres. Por lo que se sugiere que los efectos de los SSRIs son modulados por el estradiol. Dado que los SSRIs son efectivos incluso en condiciones de bajos niveles de estradiol, como la menopausia o después de la ovariectomía, se desconoce, si los estrógenos extragonadales tienen un papel en el efecto antidepresivo de los SSRIs. El objetivo de este estudio fue evaluar si el formestano (For), un inhibidor de la aromatasa, suprime el efecto tipo antidepresivo de la fluoxetina (FLX) en ratas hembra con tres semanas post-ovariectomía (3 spovx). Se utilizaron ratas Wistar hembra con 3 spovx, que fueron asignadas a los grupos: 1) Vehículo (Veh) For + Veh Flx; 2) For (17.5mg/kg) + Veh Flx; 3) Veh For + Flx (10 mg/kg) y; 4) For (17.5 mg/kg) + Flx (10 mg/kg). Los efectos fueron evaluados en la prueba de nado forzado (PNF). También se analizaron cambios en la actividad locomotora y en el peso uterino. FLX redujo la inmovilidad en la PNF y, por lo tanto, produjo un efecto tipo antidepresivo; pero, cuando For se administró junto con FLX, los valores de inmovilidad aumentaron regresando a valores similares a los del grupo control. El tratamiento con FLX, For, o ambos, no afectó la actividad locomotora de las hembras, por lo que, los efectos de estos tratamientos sobre la PNF fueron específicos sobre la conducta depresiva. Finalmente, el tratamiento con For no modificó el peso uterino de las ratas. En conclusión, este estudio sugiere que los estrógenos de origen extragonadal; por ejemplo, aquellos sintetizados directamente en el cerebro, juegan un papel crítico en el efecto tipo antidepresivo de la FLX en las hembras.

i. Abreviaturas

5-HT	Serotonina
5HIAA	Ácido 5-hidroxi-indolacético (por sus siglas en inglés: <i>5-Hydroxy indoleacetic acid</i>)
AADC	5-hidroxi-triptofano-descarboxilasa
AD	Antidepresiva
AMB	Actividad ambulatoria
ANOVA	Análisis de varianza
arKO	<i>Knockout</i> de aromatasa
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro (por sus siglas en inglés: <i>brain-derived neurotrophic factor</i>)
CIE-10	Clasificación Internacional de Enfermedades, versión 10
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DAT	Transportador de dopamina
DSM-IV	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, versión 4
DMS-V	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, versión 5
ER	Receptor a estrógeno
FLX	Fluoxetina
For	Formestano
PNF	Prueba de nado forzado
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
HDRS	Escala de Hamilton para la depresión (por sus siglas en inglés: <i>Hamilton Depression Rating Scale</i>)
IMAO	Inhibidores de la monoamino oxidasa
I U-S	Índice útero-somático
MAO	Monoamino oxidasa
NAT	Transportador de noradrenalina
NDRI	Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y dopamina
NRI	Inhibidores de la recaptura de noradrenalina
P450arom	Aromatasa
POVX	Post-ovariectomía

RE	Receptores a estrógeno
REA	<i>Rearings</i>
SERT	Transportador de serotonina
SNC	Sistema nervioso central
SNRI	Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y serotonina
SPOVX	Semanas post-ovariectomía
SSRI	Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (por sus siglas en inglés: <i>selective serotonin reuptake inhibitors</i>)
STE	Estereotipias
TPH	L-triptófano-hidroxilasa
TPOVX	Tiempo post-ovariectomía
Veh Flx	Vehículo de fluoxetina
Veh For	Vehículo de formestano
WT	Ratones silvestres (por sus siglas en inglés: <i>wild type</i>)

ii. Índice de figuras

Figura 1. Casos de depresión en México, 2019.

Figura 2. Prevalencia de depresión en México, diferencias entre género y edad.

Figura 3. Síntesis de serotonina.

Figura 4. Función del SERT.

Figura 5. Biosíntesis de hormonas sexuales a partir del colesterol.

Figura 6. Mecanismos de señalización de los estrógenos.

Figura 7. Efectos organizacionales y activacionales de las hormonas sexuales.

Figura 8. Estructura de la aromatasa.

Figura 9. Conversión de andrógenos a estrógenos.

Figura 10. Actividad de la aromatasa en distintas regiones cerebrales en rata hembra y macho.

Figura 11. Inhibidores de la aromatasa tipo 1.

Figura 12. Inhibidores de la aromatasa tipo 2.

Figura 13. Diseño experimental del efecto de dos dosis de FLX en la PNF.

Figura 14. Diseño experimental del efecto de formestano en la acción antidepresiva de FLX.

Figura 15. Efecto de diferentes dosis de FLX (5 y 10 mg/kg) en la PNF, en ratas 3 spovx.

Figura 16. Efecto de FLX (5 y 10 mg/kg) en el IU-S en ratas 3 spovx.

Figura 17. Efecto de formestano (17.5 mg/kg) en la acción antidepresiva de FLX (10 mg/kg) evaluada en la PNF, en ratas 3 spovx.

iii. Índice de tablas

Tabla 1. Trastornos depresivos comunes en la mujer y severidad de cada uno.

Tabla 2. Clasificación de los fármacos antidepresivos.

Tabla 3. Afinidad de los antidepresivos por los transportadores.

Tabla 4. Efecto de los fármacos antidepresivos en hombres y mujeres.

Tabla 5. Diferencias en la concentración hormonal en sangre en hombres y mujeres.

Tabla 6. Diferencias en la concentración hormonal en sangre en ratas hembra y macho.

Tabla 7. Diferencias en la concentración hormonal en distintas regiones cerebrales en ratas hembra y macho.

Tabla 8. Tipos celulares en lo que se encuentra aromatasa en diferentes especies.

Tabla 9. Expresión, actividad y transcripción de aromatasa en cerebro humano.

Tabla 10. Esquema de administración de los fármacos.

Tabla 11. Peso corporal de ratas 3 spovx con tratamiento de dos dosis de FLX.

Tabla 12. Peso corporal de ratas 3 spovx con tratamiento con formestano y FLX.

Tabla 13. Actividad locomotora de ratas 3 spovx con tratamiento con formestano y FLX.

ÍNDICE

I. ANTECEDENTES.....	8
1.1 Depresión	8
1.1.1 Definición y prevalencia	8
1.1.2 Diferencias de género (epidemiología)	10
1.1.3 Hipótesis de la depresión	13
1.2.1 Fármacos antidepresivos	16
1.2.3 Transportador de serotonina (SERT)	19
1.2.4 Mecanismo de acción de los antidepresivos SSRI	21
1.2.5 Efecto de los fármacos antidepresivos en mujeres	23
1.3 Hormonas sexuales como reguladoras de los tratamientos antidepresivos	25
1.3.1 Generalidades de hormonas sexuales	25
1.3.2 Efectos de las hormonas sexuales	28
1.4 Aromatasa y diferencias sexuales cerebrales	31
1.4.1 Aromatasa y síntesis de estradiol	31
1.4.2 Papel de la aromatasa en las funciones cerebrales	37
1.4.3 Inhibidores de aromatasa.....	38
1.5 Modulación de la respuesta a antidepresivos por estradiol	41
1.6 Modelos animales de depresión	42
1.6.1 Métodos para evaluar el efecto de fármacos antidepresivos	42
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	47
III. JUSTIFICACIÓN	47
IV. HIPÓTESIS.....	47
V. OBJETIVOS.....	48
5.1 Objetivo general	48
5.2 Objetivos específicos.....	48

VI. MATERIAL Y MÉTODO	49
6.1 Sujetos	49
6.2 Ovariectomía	49
6.3 Fármacos y tratamientos.....	50
6.3.1 Fluoxetina (FLX)	50
6.3.2 Formestano.....	50
6.4 Prueba de nado forzado (PNF)	50
6.5 Prueba de actividad locomotora	51
6.6 Índice útero-somático (IU-S).....	51
6.7 Series experimentales	52
Experimento 1. Efecto de dos dosis de fluoxetina (FLX) en la PNF.	52
Experimento 2. Efecto de formestano en la acción antidepresiva de FLX.....	52
6.8 Análisis estadístico.....	54
VII. RESULTADOS	55
7.1 Efecto de FLX en ratas hembra 3 semanas povx	55
7.2 Efecto de FLX en el IU-S.....	56
7.3 Efecto de formestano en la acción antidepresiva de la FLX	58
7.4 Efecto de formestano en el IU-S	59
7.5 Efecto de formestano en la actividad locomotora	60
VIII. DISCUSIÓN.....	60
8.1 Efecto del tratamiento con FLX 10 mg/kg en ratas 3 spovx.	62
8.2 Papel de los estrógenos en el efecto de FLX en ratas 3 spovx	63
8.3 El tratamiento con formestano no modifica el IU-S en ratas 3 spovx.....	66
IX. CONCLUSIÓN.....	67
X. LIMITACIONES	68
XI. PERSPECTIVAS	68
XII. REFERENCIAS	69

I. ANTECEDENTES

1.1 Depresión

1.1.1 Definición y prevalencia

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la depresión es un trastorno de salud mental que se caracteriza por tristeza, pérdida de interés y de la capacidad de disfrutar (anhedonia), sentimientos de culpa, baja autoestima, trastornos del sueño o del apetito, cansancio, falta de concentración, y en casos graves el individuo puede tener ideación suicida o intentos de suicidio (Organización Mundial de la Salud, 2020). Los síntomas deben prevalecer por al menos dos semanas para considerarse el diagnóstico de depresión (DSM-V, 2013).

La depresión afecta a más de 300 millones de personas en el mundo y es la principal causa mundial de discapacidad (Organización Mundial de la Salud, 2020). En México, la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica estimó que la tasa de prevalencia anual es de 4.8% en una muestra de personas de entre 18 y 65 años (Wagner *et al.*, 2012).

1.1.1.1 Clasificación de los trastornos depresivos

Para fines del presente trabajo, sólo se abordarán los trastornos depresivos más frecuentes en la mujer (Tabla 1). Para más información, se puede consultar el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, versión 5, publicado en 2013 (DSM-V, por sus siglas en inglés).

El trastorno depresivo mayor se caracteriza por episodios depresivos discretos que duran al menos dos semanas e involucran cambios en el afecto, la cognición y las funciones neurovegetativas; se presentan de manera recurrente, es decir, los síntomas son esporádicos y existe una remisión interepisódica. Los síntomas a pesar de ser esporádicos suelen ser intensos, por lo que afectan y dificultan las actividades cotidianas de la persona. Es común que el trastorno depresivo mayor se presente entre los 30 y 40 años (DSM-V).

Los síntomas del trastorno depresivo mayor son tristeza, ánimo deprimido, irritabilidad (en el caso de los adolescentes), anhedonia, alteraciones del sueño y la

alimentación, y se acompaña de fallas cognitivas como en la atención, dificultad para concentrarse, sentimientos de culpa o minusvalía; los riesgos de mayor gravedad son la ideación, planeación, intentos suicidas o consumación del suicidio (DSM-V). La depresión mayor es una psicopatología grave que causa una gran disfunción física y social, por lo que es considerada la primera causa de discapacidad a nivel mundial. Como problema de salud pública, es una de las enfermedades más costosas, evaluada con estimaciones como días laborales perdidos por discapacidad (Wagner *et al.*, 2012).

El trastorno depresivo persistente o distímico, a diferencia de la depresión mayor, tiene una mayor duración y se presenta de manera crónica, es decir, se diagnostica cuando los síntomas son continuos por al menos dos años y no hay remisión de la sintomatología; los síntomas pueden ser los mismos que los que se presentan en el trastorno depresivo mayor, sin embargo, son menos intensos y la edad a la que se presenta suele ser menor, a partir de los 20 años.

Tabla 1. Trastornos depresivos comunes en la mujer y severidad de cada uno.

Trastorno depresivo ¹	Categoría (Severidad) ²
Trastorno depresivo mayor	Leve
	Moderado
	Severo
Trastorno depresivo persistente (distímico)	Leve
	Moderado
	Severo

¹El diagnóstico de los trastornos depresivos se realiza con base en los criterios diagnósticos del CIE-10 o DSM-V.

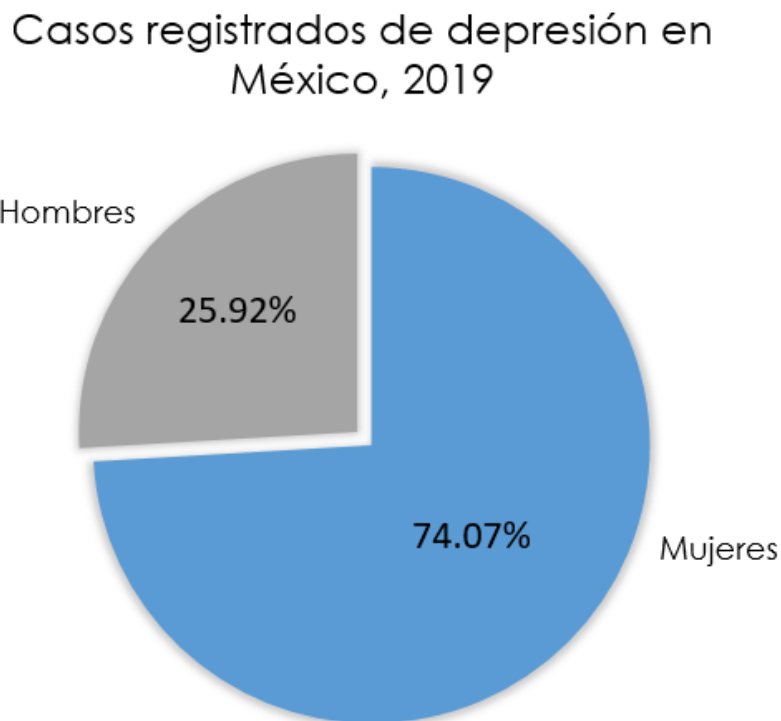
²La severidad se determina en función del puntaje obtenido en HDRS.

También es común que las mujeres presenten una forma severa del síndrome premenstrual, llamado trastorno disfórico premenstrual (DSM-V) que se caracteriza por presentar irritabilidad, depresión o ansiedad, una o dos semanas antes de comenzar el periodo menstrual. Los síntomas deben presentarse en la mayoría de los ciclos menstruales por un periodo de un año.

1.1.2 Diferencias de género (epidemiología)

En los trastornos mentales, específicamente en la depresión, se puede observar una diferencia de género en las tasas de prevalencia e incidencia (DMS-V) así como en los síntomas (Medina-Mora *et al.*, 2005). Este trastorno afectivo se presenta en mayor proporción en mujeres en comparación con los hombres, con 4.95 millones de mujeres *versus* 2.095 millones de hombres con este padecimiento (INEGI, 2016). Dicho en otras palabras, por cada hombre con depresión existen dos mujeres con el mismo diagnóstico.

En México, en el año 2019 hubo una incidencia de depresión del 4.28% respecto a la prevalencia del año anterior. Dentro de los casos totales de 2019 (figura 2) se encontró una mayor proporción de mujeres con depresión en comparación con hombres (Anuario de Morbilidad, 2019).



Datos tomados de: Anuario de morbilidad, 2019.

Figura 1. Casos de depresión en México, 2019.

El total de casos nuevos fueron 126 231. Casos registrados en mujeres: 93 500. En hombres: 32 732.

Este dato epidemiológico se ha mantenido a lo largo del tiempo de acuerdo con otros reportes (Faravelli *et al.*, 2013; Salk *et al.*, 2017) (figura 1), con un mayor número de mujeres con este diagnóstico (relación 2:1). La diferencia comienza a observarse durante la etapa puberal, aumenta en los siguientes años y tiene un máximo durante la adultez coincidiendo con la perimenopausia y menopausia en la mujer; posteriormente en la vejez, la diferencia por género disminuye (Anuario de Morbilidad, 2019).

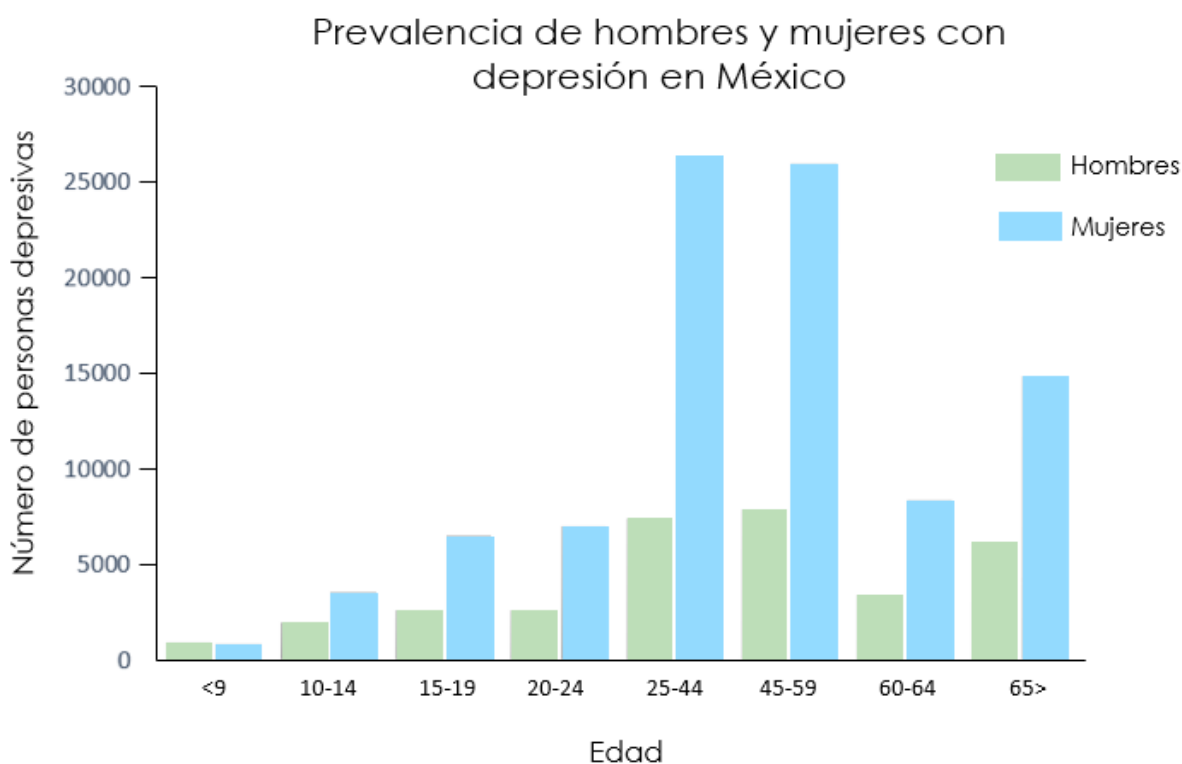


Figura 2. Prevalencia de depresión en México, diferencias entre género y edad. Los datos están estratificados por edad de la siguiente manera: <9 (niñez), 10-14 (adolescencia temprana), 15-19 (adolescencia), 20-24 y 25-44 (adulto joven), 45-59 (adultos maduros), 60-64 y 65> (vejez). Datos tomados del Anuario de Morbilidad, 2019.

Las diferencias por sexo se han atribuido tanto a condiciones biológicas como psicosociales. Las últimas involucran la exposición de las mujeres a estresores sociales debido a un estado desventajoso en comparación con los hombres, que ha sido perpetuado a través de la cultura: las mujeres son impactadas por diferentes formas de violencia (sexual, doméstica), tienen menor capacitación y menores oportunidades de trabajo. La integración de estos factores ha dado lugar a la teoría de que la depresión tiene orígenes sociales en

respuesta a eventos interpersonales negativos (Hammen, 2018). De manera paralela, otra explicación para la mayor frecuencia de depresión en la mujer está relacionada con una vulnerabilidad biológica (Flores-Ramos y Martínez-Mota, 2012). Este argumento podría restar importancia a la hipótesis de los factores psicosociales y depresión en la mujer, ya que la diferencia en la depresión entre mujeres y hombres se mantiene constante (o alrededor de) entre países con ingresos económicos diferentes, por ejemplo: en los países de África Occidental hay una mayor prevalencia de mujeres con depresión que hombres y la tendencia no ha cambiado a lo largo de los años (de 1990 a 2017); lo mismo se puede observar en países de Asia Central, hay una mayor proporción de mujeres con depresión que hombres (Global Burden of Disease, 2018).

Sin descartar la influencia de los factores psicosociales en la diferencia por sexos en la depresión, las hipótesis más robustas que han surgido para explicar las diferencias por sexo en la depresión involucran los cambios en las hormonas del eje reproductivo que cada sexo posee, y que varían diferencialmente entre ellos a lo largo del ciclo vital (Flores-Ramos y Martínez-Mota, 2012). En el caso de las mujeres, la depresión es modulada por las oscilaciones hormonales, predominantemente de estrógenos, que se presentan a lo largo de la vida reproductiva; por ejemplo, durante la pre, peri y postmenopausia (DSM-V). Los reportes epidemiológicos aportan evidencia de que, en las mujeres con ciclos reproductivos establecidos, hay un aumento en el riesgo de padecer depresión cuando los niveles de hormonas sexuales son bajos, esto se puede observar en el período posparto y en la menopausia (Flores-Ramos y Martínez-Mota, 2012; DSM-V). Hay un incremento de los síntomas depresivos específicamente en el periodo de transición de la perimenopausia a la menopausia, que dura aproximadamente 10 años, mismos que disminuyen en la postmenopausia. Cabe destacar que estas diferencias no se presentan en los hombres en una muestra pareada por edad (Faravelli *et al.*, 2013), lo que apoya la idea de que no es propiamente la edad, sino los cambios abruptos en la concentración de hormonas sexuales, los que impactan principalmente a la mujer.

1.1.3 Hipótesis de la depresión

La depresión es un trastorno complejo del que no se saben las causas exactas de su origen y desarrollo. Sin embargo, gracias a estudios postmortem y técnicas de neuroimagen se han propuesto una hipótesis respecto al origen de la enfermedad. De manera general, se ha establecido que, en el desarrollo de la depresión, existen niveles de disfuncionalidad neurobiológica que van desde los moleculares, celulares, y sistemas neuronales, hasta que se manifiesta en la conducta dando lugar a los síntomas depresivos (Zandio *et al.*, 2002).

A continuación, se describen algunas de las hipótesis biológicas de la depresión. Un común denominador a varias de ellas es el estrés, que se define como todos aquellos retos de la vida cotidiana, y particularmente los experimentados en etapas tempranas del desarrollo, que desregulan al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, lo que tiene como consecuencia la liberación excesiva de glucocorticoides aún en circunstancias de retos estresantes mínimos. Como un proceso adaptativo, los receptores a glucocorticoides reducen su cantidad/ afinidad, dando lugar a un empobrecimiento del asa de retroalimentación negativa, principal mecanismo utilizado por el cuerpo para frenar la liberación de glucocorticoides al torrente sanguíneo y reducir su impacto en órganos blanco, tales como las estructuras cerebrales, principalmente el hipocampo (Boku *et al.*, 2018).

1. La hipótesis de la neuroplasticidad sugiere que el estrés y los glucocorticoides inducen atrofia de las neuronas hipocampales maduras (Boku *et al.*, 2018).
2. La hipótesis de la neurogénesis sostiene que se disminuye el número de neuronas nuevas y sus células progenitoras en el giro dentado del hipocampo a causa del estrés y los glucocorticoides (Boku *et al.*, 2018).

Las dos hipótesis descritas anteriormente surgieron a partir de que se observó una disminución en el volumen del hipocampo en pacientes con trastornos depresivos (Boku *et al.*, 2018). Esta estructura cerebral participa en procesos cognitivos, emocionales, y proporciona un soporte a la regulación del eje del estrés ya que contribuye con el eje de retroalimentación negativa. Cuando hay un incremento de

glucocorticoides, éstos se unen a sus receptores que se encuentran en el hipocampo, como consecuencia de esto, se inhibe la secreción del factor liberador de corticotrofina, entonces la concentración de glucocorticoides regresa a sus niveles normales, disminuyéndose el estrés (Boku *et al.*, 2018). Por lo tanto, el deterioro estructural del hipocampo podría explicar los síntomas depresivos persistentes, sobre todo a nivel de cognición y de regulación emocional.

3. La hipótesis neurotrófica sostiene que, un factor importante para el desarrollo de la depresión es la disminución de la plasticidad neuronal y del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés), una proteína importante en este proceso. Se ha observado que la reducción de BDNF ocasiona atrofia dendrítica y disminución de la neurogénesis del hipocampo, lo que aumenta la conducta depresiva en modelos animales (Jaggar *et al.*, 2019). Estudios en pacientes con trastorno depresivo mayor han reportado niveles bajos de BDNF en el hipocampo y en suero, y de su receptor TrkB (Haase y Brown, 2015).
4. La hipótesis de las citocinas postula que las citocinas pro-inflamatorias tienen una acción crónica en el sistema nervioso central (SNC) que puede inducir respuestas conductuales que han sido identificadas como síntomas de la depresión, por ejemplo: letargo, pérdida de apetito o anhedonia. En otras palabras, cuando una situación de estrés se presenta por un tiempo prolongado puede tener efectos negativos en la homeostasis, dando lugar a un aumento en el nivel de las citocinas que, en conjunto con una concentración elevada de glucocorticoides, pueden ocasionar depresión (Haase y Brown, 2015).
5. La hipótesis de las monoaminas es la más aceptada, y la que tiene un valor histórico por presentar los elementos clave para comprender la fisiopatología de la depresión. Fue propuesta inicialmente por Joseph Jacob Schildkraut en 1965, posteriormente se modificó dando lugar a la que conocemos actualmente, y enuncia que existen anomalías en la función serotoninérgica y noradrenérgica, principalmente en el metabolismo de las monoaminas en el SNC, que ocasionan una disminución de los

niveles de serotonina (5-HT), noradrenalina y sus respectivos metabolitos, dando lugar a la depresión (Pryor y Sulser, 1991).

Los hechos que dieron lugar al planteamiento de la hipótesis monoaminérgica de la depresión ocurrieron a mediados del siglo XX. Algunos médicos reportaron síntomas depresivos en pacientes hipertensos tratados con reserpina, un antihipertensivo. Años más tarde se descubrió que la reserpina disminuye los niveles de las monoaminas dilucidando la causa de los síntomas (Pryor y Sulser, 1991). Después de 1950, se desarrollaron los primeros antidepresivos, que evitan que las monoaminas sean degradadas por la enzima monoamino oxidasa (MAO), por ende, los inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAOs) aumentan la concentración de 5-HT, noradrenalina y dopamina en el espacio sináptico, observando así una disminución de los síntomas depresivos (Howard *et al.*, 2012). También, surgieron en la misma época los antidepresivos tricíclicos, cuyo nombre se debe a su estructura química, los cuales actúan sobre los sistemas monoaminérgicos, a través de un mecanismo primario que involucra el bloqueo preferencial de los transportadores para monoaminas, aunque su interacción con otros receptores provoca efectos adversos que, en caso de dosis altas de tratamiento, ponían en riesgo la vida de los pacientes (Richelson, 2001). Ambos tipos de fármacos se utilizaron durante las siguientes tres décadas para el tratamiento de la depresión hasta que se desarrollaron los antidepresivos denominados inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (SSRI), denominados antidepresivos de segunda y tercera generación, muchos de los cuales son los más prescritos hoy en día (Alvano y Zieher, 2020). Tales fármacos, como los SSRI, tienen como fin farmacológico incrementar la concentración de 5-HT en la sinapsis, y producir cambios adaptativos tanto en el sistema serotoninérgico como en los circuitos cerebrales que subyacen a la depresión (Richelson, 2001).

Se puede concluir que, las monoaminas tienen un papel importante en el desarrollo de la depresión, ya que como se mencionó anteriormente, al reducirse sus niveles, las personas presentan síntomas depresivos, y al ser tratados con fármacos que regulan sus niveles, los síntomas disminuyen (Pryor y Sulser, 1991). Una limitación que tiene eco en investigaciones recientes es que los efectos de todos los antidepresivos son de lenta

instauración, dando lugar al desarrollo de nuevos coadyuvantes o terapias experimentales cuyo propósito es acortar el inicio del efecto terapéutico.

1.2 Tratamientos antidepresivos

1.2.1 Fármacos antidepresivos

Los fármacos antidepresivos se clasifican en función de su mecanismo de acción o de acuerdo con su estructura química, como se ilustra en la tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de los fármacos antidepresivos.

Tipo de antidepresivo	Ejemplo
Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (SSRI) ^{1,2}	fluoxetina, citalopram, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, escitalopram
Inhibidores de la recaptura de noradrenalina (NRI) ^{1,2}	reboxetina
Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y serotonina (SNRI) ^{1,2}	venlafaxina
Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y dopamina (NDRI) ^{1,2}	bupropion
Inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO) ²	selegilina, moclobemida
Tricíclicos ³	desipramina, imipramina

¹En conjunto se clasifican como inhibidores de la recaptura de monoaminas.

²Se clasifican de esta manera de acuerdo a su mecanismo de acción.

³Se clasifican de esta manera acuerdo a su estructura química.

Los antidepresivos tricíclicos son conocidos como multimodales debido a que la inhibición de la recaptura de las monoaminas no la realizan de manera selectiva, es decir, pueden inhibir tanto el transportador de serotonina (SERT) como el de noradrenalina (Alvano y Zieher, 2020).

Los IMAOs reducen la degradación de las monoaminas en la sinapsis: en vez de que las monoaminas sean degradadas en la presinápsis, son almacenadas en las vesículas para posteriormente ser liberadas al espacio sináptico. Este tipo de antidepresivos pueden ser

selectivos o no selectivos de la MAO-A. Selegilina y moclobemida son selectivos de este tipo de MAO (Howard *et al.*, 2012).

Los inhibidores de la recaptura de monoaminas son antidepresivos con acción selectiva o dual; tienen como *target* a los transportadores de serotonina, noradrenalina y dopamina, que son proteínas transmembranales que se encuentran en las neuronas y que se encargan de reintroducir a las monoaminas a la neurona presináptica. Por lo tanto, estos antidepresivos ocasionan que las monoaminas permanezcan un mayor tiempo en la sinapsis (Alvano y Zieher, 2020). Actualmente, el tratamiento de primera línea para el trastorno depresivo mayor es con SSRI, tales como fluoxetina (FLX), sertralina, paroxetina, citalopram y escitalopram; también, bajo el mismo principio, se utilizan los inhibidores duales, como duloxetina y venlafaxina, o los NDRI, como bupropion (Alvano y Zieher, 2020).

1.2.2 5-HT y sus implicaciones en la depresión

La 5-HT es un neurotransmisor de tipo monoamina, entre sus funciones está modular diversas conductas como el estado de ánimo, el apetito, sueño, entre otras (Stahl, 1998). Su síntesis depende de la disponibilidad de su aminoácido precursor, L-triptófano. Se produce mediante una serie de reacciones llevadas a cabo por dos enzimas, el proceso se puede observar en la figura 3. Comienza con el aminoácido L-triptófano que es convertido en 5-hidroxitriptofano (5-HTP) por medio de la enzima L-triptofano-hidroxilasa (TPH), la cual, agrega un grupo hidroxilo a L-triptófano; posteriormente al 5-HTP que se obtuvo se le elimina un grupo carboxilo, catabolizado por la enzima 5-hidroxi-triptofano-descarboxilasa (AADC), dando como resultado la 5-HT (Kroeze *et al.*, 2012).

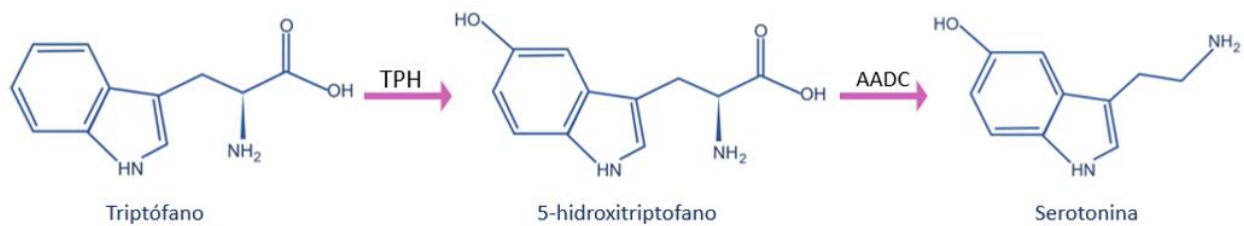


Figura 3. Síntesis de serotonina.
TPH, L-triptófano-hidroxilasa; AADC, 5-hidroxi-triptófano-descarboxilasa

La 5-HT resultante es almacenada en vesículas y posteriormente es liberada al espacio sináptico donde puede unirse a los receptores postsinápticos y activar vías de transducción de señales; la 5-HT es degradada en la sinapsis o llevada por el SERT al interior de la neurona en donde puede tomar dos caminos: será degradada por la MAO o será almacenada y posteriormente reutilizada volviendo a liberarse en el espacio sináptico (Kroeze *et al.*, 2012). En el SNC la 5-HT es sintetizada en las neuronas serotoninérgicas, que se encuentran distribuidas en los núcleos del rafe de la línea media, que se extienden caudalmente desde el mesencéfalo hasta la médula (Boadle-Biber, 1993). Cabe destacar que, hay otros sitios donde también podemos encontrar una producción de 5-HT como: el plexo neural entérico, las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal, los mastocitos de tejidos conectivos y los pinealocitos de la glándula pineal (Hasegawa y Nakamura, 2010). Es por ello que cambios en la síntesis y liberación de 5-HT, afectan diferentes órganos y tejidos, y que el tratamiento con SSRI produce efectos adversos que no están relacionados con la conducta.

Se ha observado que una disminución temporal de la transmisión de 5-HT ocasionada por la depleción de triptófano tiene como consecuencia un aumento de los síntomas depresivos, cabe destacar que dicho aumento es más significativo en mujeres que en hombres (Sramek *et al.*, 2016). Esto se explica porque las hormonas también están involucradas en la concentración de 5-HT, por ejemplo, el estradiol y la progesterona modulan la síntesis de 5-HT a través de cambios en la actividad de enzimas involucradas en la síntesis y degradación

de 5-HT (LeGates *et al.*, 2019). Los estrógenos también inducen cambios en la unión de la 5-HT en el SERT y los receptores serotoninérgicos (Sramek *et al.*, 2016).

1.2.3 Transportador de serotonina (SERT)

El SERT es una proteína con 12 dominios transmembranales perteneciente a la familia SLC6 de transportadores acoplados a iones, posee bucles intra y extracelulares, los extremos N-terminal y C-terminal se encuentran en el interior de la célula (Aggarwal y Mortensen, 2017), es codificado por el gen SLC6A4. El SERT se expresa en las neuronas serotoninérgicas de los núcleos del rafe, el hipotálamo, la amígdala, el cuerpo estriado, el tálamo, entre otras (Aggarwal y Mortensen, 2017). También se expresa en tejidos periféricos como células especializadas del intestino, pulmones, linfocitos de sangre y plaquetas (Ramamoorthy *et al.*, 2011).

El SERT es el responsable de modular la recaptura de 5-HT del espacio extracelular al intracelular; cotransporta una molécula de 5-HT, una de Na⁺ y otra Cl⁻ al interior de la célula, con un ión K⁺ en la dirección opuesta (Aggarwal y Mortensen, 2017) (figura 4).

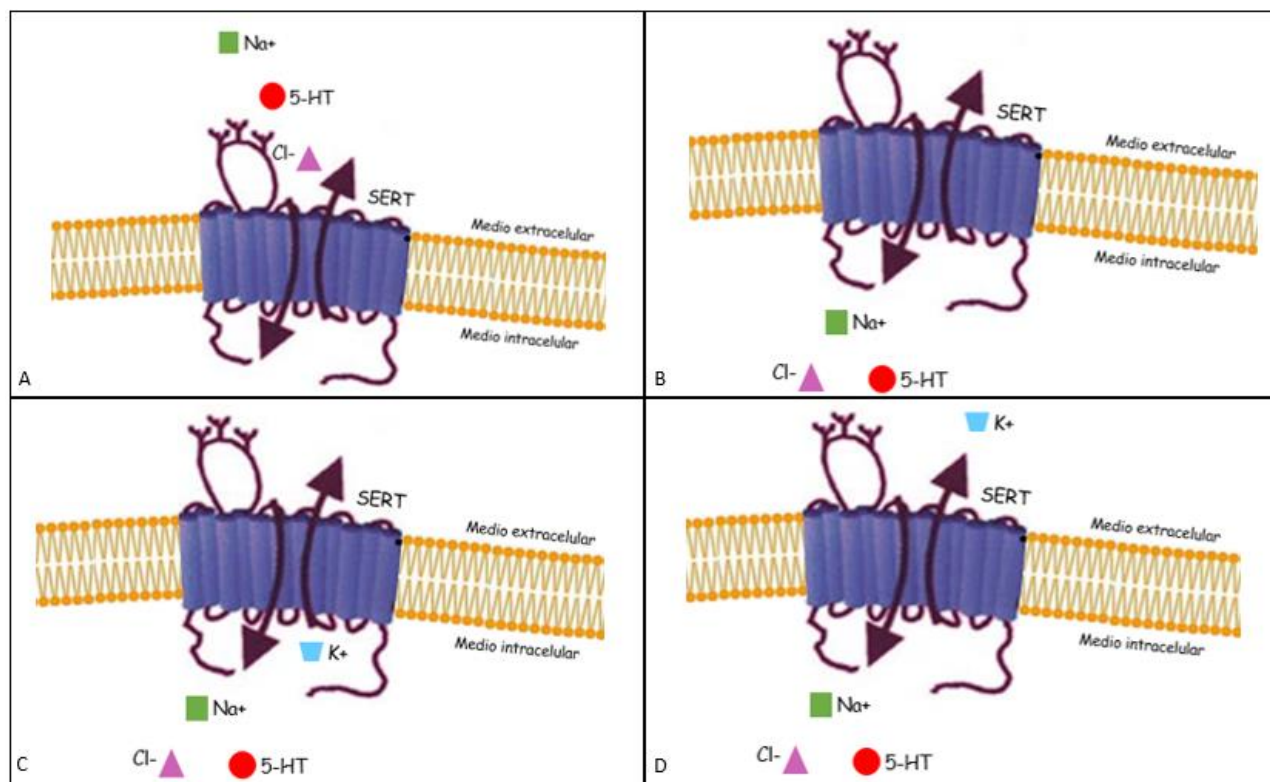


Figura 4. Función del SERT.

El transporte hacia el interior de la célula por medio del SERT requiere una serie de pasos. A) Una vez que 5-HT, Na⁺ y Cl⁻ están unidos al transportador (SERT), éste sufre cambios conformacionales que consisten en cerrar el medio extracelular y exponer el sitio de unión al citoplasma. B) 5-HT, Na⁺ y Cl⁻ pasan a través de SERT y son liberados al interior de la célula. C) Posteriormente, un ion de K⁺ intracelular se une al transportador, ocurren cambios conformacionales que cierran el acceso al citoplasma y se expone el sitio de unión al medio extracelular. D) Finalmente, K⁺ pasa a través del SERT y se libera al espacio sináptico (Rudnick, 2006).

Además, tiene un papel importante en la depresión ya que se ha observado que las mujeres depresivas presentan una disminución del 22% de la disponibilidad del SERT en el diencefalo, en comparación con mujeres no depresivas (Staley *et al.*, 2006).

La expresión y densidad del SERT están modulados por factores tanto extrínsecos como intrínsecos, dentro de los factores extrínsecos se incluyen fármacos antidepresivos como la FLX que regula a la baja la densidad del SERT (Mirza *et al.*, 2007). Otro factor es el estrés, estudios en modelos animales se encontró que el tratamiento con corticosterona indujo una reducción en la densidad del SERT (Reisinger *et al.*, 2019). Como factor intrínseco se encuentran las hormonas sexuales ováricas, ya que la ovariectomía ocasiona una reducción de la densidad del SERT en el hipotálamo, en tanto que la densidad aumenta cuando se administra estradiol, progesterona, o ambos esteroides (Attali *et al.*, 1997). Clínicamente, se ha observado que las hormonas sexuales influyen en la efectividad del tratamiento antidepresivo. Estudios que comparan el efecto antidepresivo de diversos

bloqueadores selectivos (paroxetina, citalopram) o duales (5-HT/noradrenalina) entre mujeres pre- y postmenopáusicas muestran que las primeras tuvieron una mejor respuesta antidepressiva que las postmenopáusicas (Pae *et al.*, 2009), lo que sugiere interacciones entre los estrógenos y los antidepressivos. En un estudio doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, mujeres maduras depresivas fueron tratadas con FLX (20 mg/día) o placebo + terapia de reemplazo hormonal o sin terapia de reemplazo hormonal. Se encontró que, el 40.1% de las mujeres tratadas con FLX (20 mg/día) + terapia de reemplazo hormonal tuvieron una respuesta de mayor o igual al 50% de mejora en el Ham-D21 (escala de calificación estándar para medir la gravedad de la enfermedad), es decir, el 40.1% de las mujeres tuvieron eficacia al tratamiento con FLX. En cambio, aquellas mujeres que no recibieron terapia de reemplazo hormonal + FLX, el 36.1% tuvo una mejora en el Ham.D21 (Schneider *et al.*, 1997). Con lo anterior se sugiere que ya sea de forma natural o farmacológica, los estrógenos favorecen una mayor efectividad del tratamiento con antidepressivos SSRI.

1.2.4 Mecanismo de acción de los antidepressivos SSRI

Los antidepressivos SSRI son conocidos por su eficacia, buena tolerabilidad, tienen pocos efectos adversos y porque son relativamente seguros en comparación con otros tipos de antidepressivos, por ello, son los más prescritos para el tratamiento de la depresión. Este tipo de antidepressivos tienen una alta afinidad por el SERT (tabla 3) (Howard *et al.*, 2012).

Tabla 3. Afinidad de los antidepresivos por los transportadores.

Tipo de antidepresivo	Antidepresivo	Afinidad		
		SERT	NAT	DAT
SSRI	Fluoxetina	+++	-	-
	Citalopram	+++	-	-
	Sertralina	+++	-	+
	Paroxetina	+++	+	-
NRI	Reboxetina	-	+++	-
SNRI	Venlafaxina	+	+	-
NDRI	Bupropion	-	+	++
Tricíclicos	Desipramina	+	+++	-
	Imipramina	+++	+	-

Datos tomados de: Howard *et al.*, 2012.

Abreviaturas

SSRI, Inhibidores de la recaptura de serotonina; NRI, inhibidores de la recaptura de noradrenalina; SNRI, Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y serotonina; NDRI, Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y dopamina.

SERT, transportador de serotonina; NAT, transportador de noradrenalina; DAT, transportador de dopamina. +++ , alta afinidad; ++, afinidad moderada; +, baja afinidad; -, no tiene afinidad.

Los SSRI se unen al SERT de manera antagónica bloqueándolo e impidiendo la unión de la 5-HT, por lo que se inhibe la capacidad del transportador para recapturar al neurotransmisor desde el espacio sináptico; como consecuencia de esto, la 5-HT permanece por más tiempo en la sinapsis, es así que se incrementa el nivel extracelular de 5-HT (Richelson, 2001).

El bloqueo del SERT por parte de los SSRI produce efectos de corto y largo plazo. Los efectos inmediatos o de corto plazo son una inhibición de la tasa de disparo de 5-HT, así como una disminución de su síntesis y liberación al espacio sináptico, esto sucede como consecuencia de una retroalimentación negativa en la que están involucrados los receptores 5-HT_{1A} (Richelson, 2001). Cuando incrementa el nivel de 5-HT en el espacio sináptico se activan receptores que están acoplados a proteínas G α_i (Murphy *et al.*, 1998), las cuales,

abren los canales de potasio en la membrana celular, la célula se hiperpolariza, lo cual, resulta en una reducción de la tasa de disparo de 5-HT, esta reducción se traduce también a una reducción de la liberación de 5-HT (Artigas, 2013). Cuando los efectos son de largo plazo (tratamiento crónico) ocurren cambios adaptativos, hay una desensibilización de los receptores 5-HT_{1A} por lo que la neurona se ve “forzada” a producir nuevamente mayor 5-HT. De manera progresiva, aumenta la liberación de 5-HT en el espacio sináptico lo que conlleva a una eliminación de la desensibilización de los receptores postsinápticos. Finalmente, se reduce la retroalimentación negativa, lo que aumenta la liberación de 5-HT (Richelson, 2001).

1.2.5 Efecto de los fármacos antidepresivos en mujeres

Se ha propuesto que la eficacia de los antidepresivos es modulada por el sexo, sugiriendo la participación de las hormonas sexuales (Sramek *et al.*, 2016). A continuación, se describen algunos estudios clínicos con hombres y mujeres diagnosticados con depresión, donde se describen estas diferencias (tabla 4).

Tabla 4. Efecto de los fármacos antidepresivos en hombres y mujeres.

No. Pacientes	Tratamiento	Respuesta al tratamiento	Referencia
635	Imipramina vs sertralina	Respuesta antidepresiva (AD) a sertralina Mujeres 57% Hombres 45%	Kornstein et al., 2000
239	Imipramina vs sertralina	Respuesta AD a sertralina Mujeres 72.2% Hombres 56.5%	Baca et al., 2004
86	Citalopram vs reboxetina	Respuesta AD a Citalopram Mujeres 80% Hombres 64.4%	Berlanga y Flores-Ramos, 2006
16*	Fluoxetina	Niveles de triptófano Mujeres 82.70% Hombres 32%	Bano et al., 2004

*Pacientes depresivos vs grupos control

La revisión de Sramek y cols. (2016) reporta nueve estudios en los cuales las mujeres tienen una mejor respuesta a los SSRI. También se reportan 5 estudios en donde los hombres responden mejor a los antidepresivos tipo tricíclicos (imipramina) en comparación con mujeres, estos resultados se mantienen incluso en mujeres y hombres >40 años. Otro dato que apoya la hipótesis de las diferencias por sexo es que el tratamiento con FLX aumenta la concentración de triptófano en suero de forma diferencial entre sexo. Tanto en hombres como en mujeres hay un incremento significativo de triptófano en comparación con los controles (pacientes depresivos no tratados) pero el aumento fue mayor en mujeres. Se propone que el aumento de triptófano en plasma tiene influencia sobre la concentración de este mismo aminoácido en el cerebro y también sobre la concentración de 5-HT (Bano *et al.*, 2004), esto podría explicar la mejor respuesta a los SSRI en mujeres.

La diferencia en la efectividad del tratamiento también podría explicarse por la presencia de hormonas femeninas ya sea naturales, o como parte de terapias de reemplazo hormonal. Las hormonas naturales provienen principalmente de las gónadas, y en menor

medida, de fuentes extragonadales. Otra posible explicación es que el subtipo de depresión diagnosticado tiene influencia en la efectividad del tratamiento, por ejemplo: en la depresión atípica, los síntomas de la depresión difieren entre hombres y mujeres; en este caso las mujeres tienen a mostrar más síntomas somáticos, que responden preferencialmente a los SSRI (LeGates *et al.*, 2019).

Otro factor que posiblemente esté implicado es la farmacocinética de los antidepresivos, por ejemplo, diferencias por sexo en la absorción, distribución, metabolismo y excreción de estos medicamentos (Sramek *et al.*, 2016). Esto puede relacionarse con las hormonas ováricas, pero también a características corporales femeninas como mayor volumen de grasa corporal. Un estudio muestra que, no hay diferencia significativa en la concentración máxima de FLX en sangre en hombres y mujeres después de la administración de este fármaco durante 42 días, aunque sí se observa una mayor concentración en mujeres. En cuanto a la vida media de eliminación de FLX, aunque tampoco hubo diferencias significativas, se puede observar que fue ligeramente más rápida en hombres que en mujeres. Sin embargo, cuando se mide la concentración en sangre del principal metabolito de FLX (norfluoxetina) sí se observa una diferencia en cuanto al sexo; las mujeres presentaron una mayor concentración del metabolito que los hombres y la vida media de eliminación del metabolito fue más lenta en las mujeres en comparación con los hombres (Ferguson y Hill, 2006).

1.3 Hormonas sexuales como reguladoras de los tratamientos antidepresivos

1.3.1 Generalidades de hormonas sexuales

Las hormonas sexuales es el término genérico con el que se conoce a los esteroides que se producen principalmente en las gónadas, aunque también hay producción de éstos en pequeñas cantidades, en otros tejidos como en las glándulas suprarrenales, en la grasa o en el SNC (Frank y Schneider, 2013). Su síntesis es a partir del colesterol (figura 5); éste se convierte en pregnanolona mediante la enzima P450_{scc}. La pregnanolona actúa como precursor de las hormonas esteroides, a partir de ella se pueden tomar 4 diferentes caminos y sintetizarse distintas hormonas como 20 α -dihidropregnanolona, 7 α -hidroxipregnanolona,

progesterona o dehidroepiandrosterona (DHEA), este último esteroide se convierte en androstenediona, luego en testosterona y finalmente en estradiol mediante la enzima aromatasa (para información detallada sobre la conversión de andrógenos a estrógenos consultar apartado 1.4.1.). El esteroide que se sintetizará en la ruta metabólica depende de la expresión de alguna enzima en específico y de la competencia entre las enzimas por algún sustrato (Mellon *et al.*, 2001). Cabe destacar que, los andrógenos son precursores de los estrógenos (Stanisić *et al.*, 2010), ambos se producen tanto en los testículos como en los ovarios, pero en diferentes cantidades, en estos últimos la síntesis de hormonas sexuales se realiza tanto en las células de la teca como en células de la granulosa (Cui *et al.*, 2013).

En el caso del estrógeno que es producido en el cerebro, la síntesis se lleva a cabo en las neuronas y en los astrocitos, pero no en microglía ni en oligodendrocitos (Cui *et al.*, 2013).

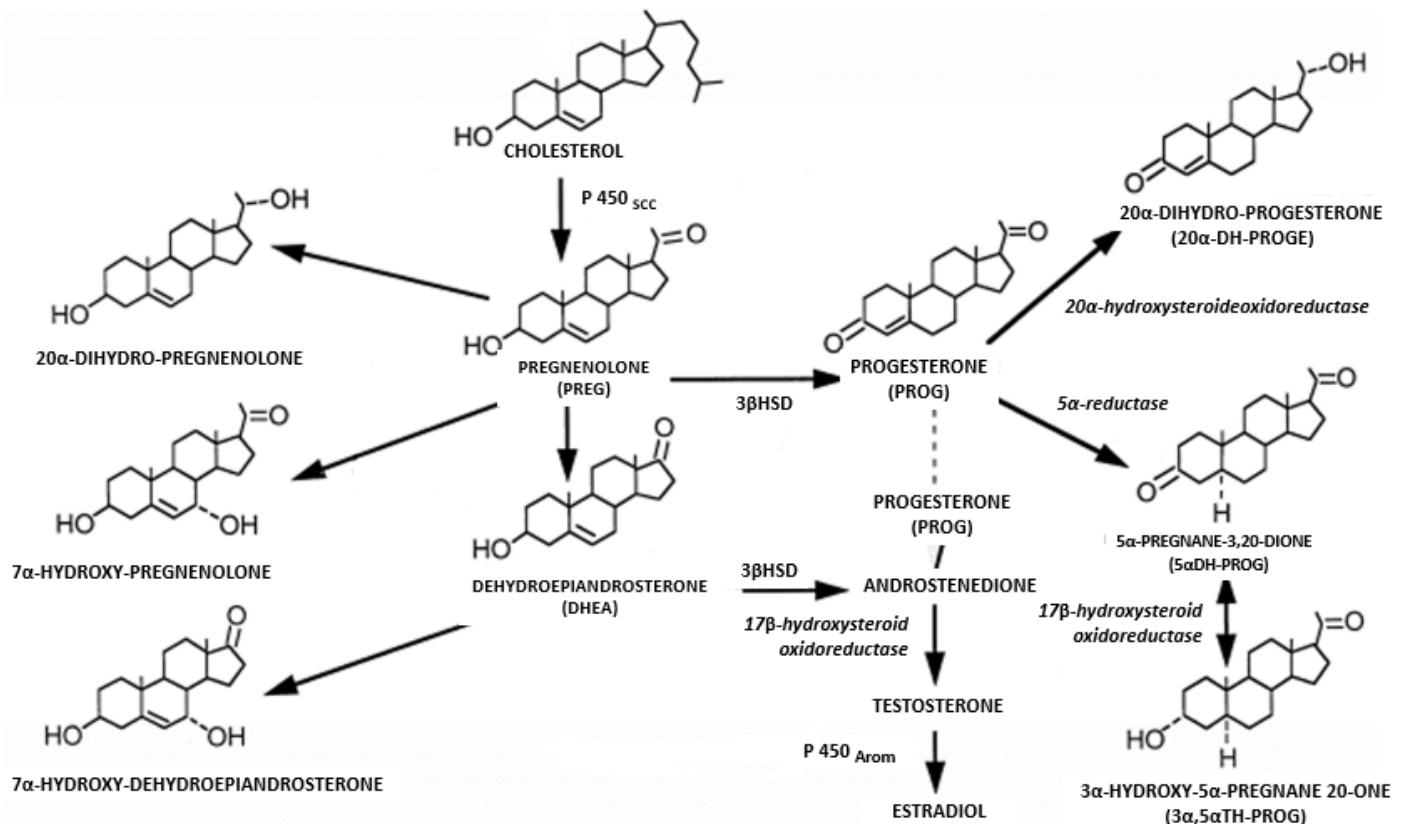


Figura 5. Biosíntesis de hormonas sexuales a partir del colesterol. P450scc, enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol mitocondrial; P450arom, enzima aromatasa (Tomado y modificado de Baulieu, 1998).

Los efectos de las hormonas sexuales, particularmente del estradiol, que es un elemento central de esta tesis, se producen a partir de su interacción con receptores a estrógenos (RE). Hay distintos subtipos de RE: receptores nucleares como ER α o ER β y receptores de membrana como GRP30 o ER-X. Estos RE se encuentran distribuidos en diferentes regiones cerebrales y en distintos tejidos periféricos (Cui *et al.*, 2013). La señalización mediada por el estrógeno puede ser dividida en genómica y no genómica (figura 6), a continuación, se describe de manera general cada una:

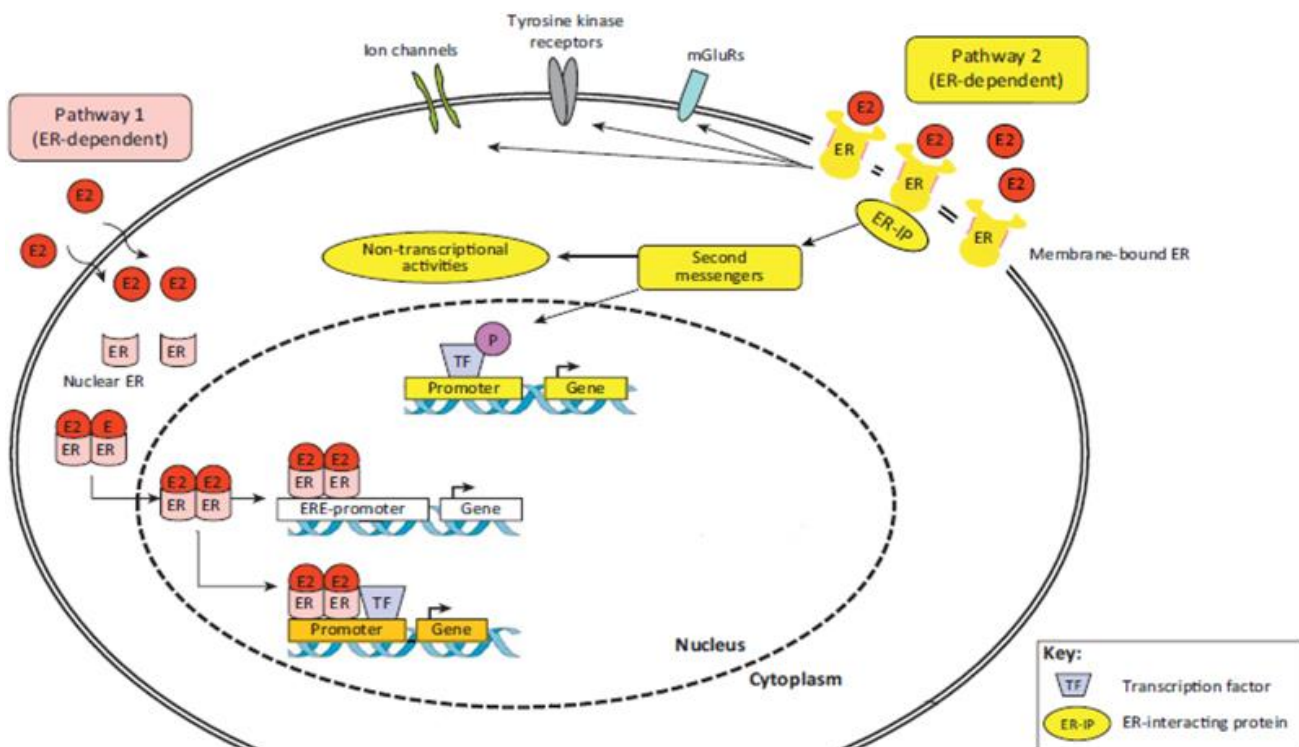


Figura 6. Mecanismos de señalización de los estrógenos.

Vía 1: En esta vía de señalización los receptores a estrógeno ER α y ER β actúan como factores de transcripción. El estrógeno se une a ERs, el complejo se dimeriza y se transloca al núcleo, se inducen cambios transcripcionales en genes sensibles al estrógeno con o sin elementos de respuesta a estrógenos (ERE).

Vía 2: El estrógeno se une a los receptores de membrana, esto induce eventos citoplasmáticos como la modulación de canales iónicos en la membrana, cascadas de segundos mensajeros y factores de transcripción.

(Tomado y modificado de Cui *et al.*, 2013)

La señalización genómica es conocida como el mecanismo clásico de señalización del estrógeno. En estos efectos se involucra el paso de la hormona por la membrana de la célula por un mecanismo de difusión pasiva, y la posterior unión de la hormona a un receptor

citoplasmático. Posteriormente ocurre la migración de complejos RE (dímeros) al núcleo celular y una interacción directa con la cromatina en secuencias específicas de DNA conocidas como elementos de respuesta de estrógenos (Fuentes y Silveyra, 2019). Este mecanismo estimula la transcripción de genes asociados a una gran cantidad de proteínas que participan en la fisiología normal. Los efectos no genómicos son más rápidos que los genómicos y son aquellos en los que se involucra la regulación indirecta de la expresión de genes a través de la activación de mecanismos de transducción de señales, se producen segundos mensajeros intracelulares, se regula el AMPc, y se activan proteínas cinasas de las cascadas de señalización que dan como resultado cambios indirectos en la expresión de los genes (Fuentes y Silveyra, 2019).

1.3.2 Efectos de las hormonas sexuales

Las hormonas sexuales están involucradas en procesos fisiológicos y moleculares en células y tejidos del cuerpo; por ejemplo, participan en la diferenciación y maduración sexual, en la expresión de los caracteres sexuales primarios y secundarios durante el desarrollo, en la homeostasis de los tejidos reproductivos y no reproductivos, y en la expresión de la conducta sexual, social, afiliativa, entre otros (Stanisić *et al.*, 2010). Las hormonas sexuales producen sus efectos a través de dos tipos de acciones: a) organizacionales, definidas como aquellos cambios permanentes en la estructura y función del cerebro como respuesta a la exposición a hormonas sexuales durante los periodos críticos del desarrollo prenatal y post natal temprano, ejemplo de ello es el papel que juegan estas hormonas en la diferenciación cerebral sexual; b) activacionales, que se refiere a los efectos fisiológicos (por ejemplo, cognitivos y conductuales) en respuesta a las hormonas sexuales circulantes una vez que los efectos organizacionales ya fueron consolidados (Ulubaey *et al.*, 2009); ejemplo de este tipo de acciones es en ratas macho castradas, en las que se puede observar que la presencia de testosterona exógena en la amígdala media induce cambios en su morfología lo que promueve el comportamiento sexual (Bialy y Sachs, 2002) (figura 7).

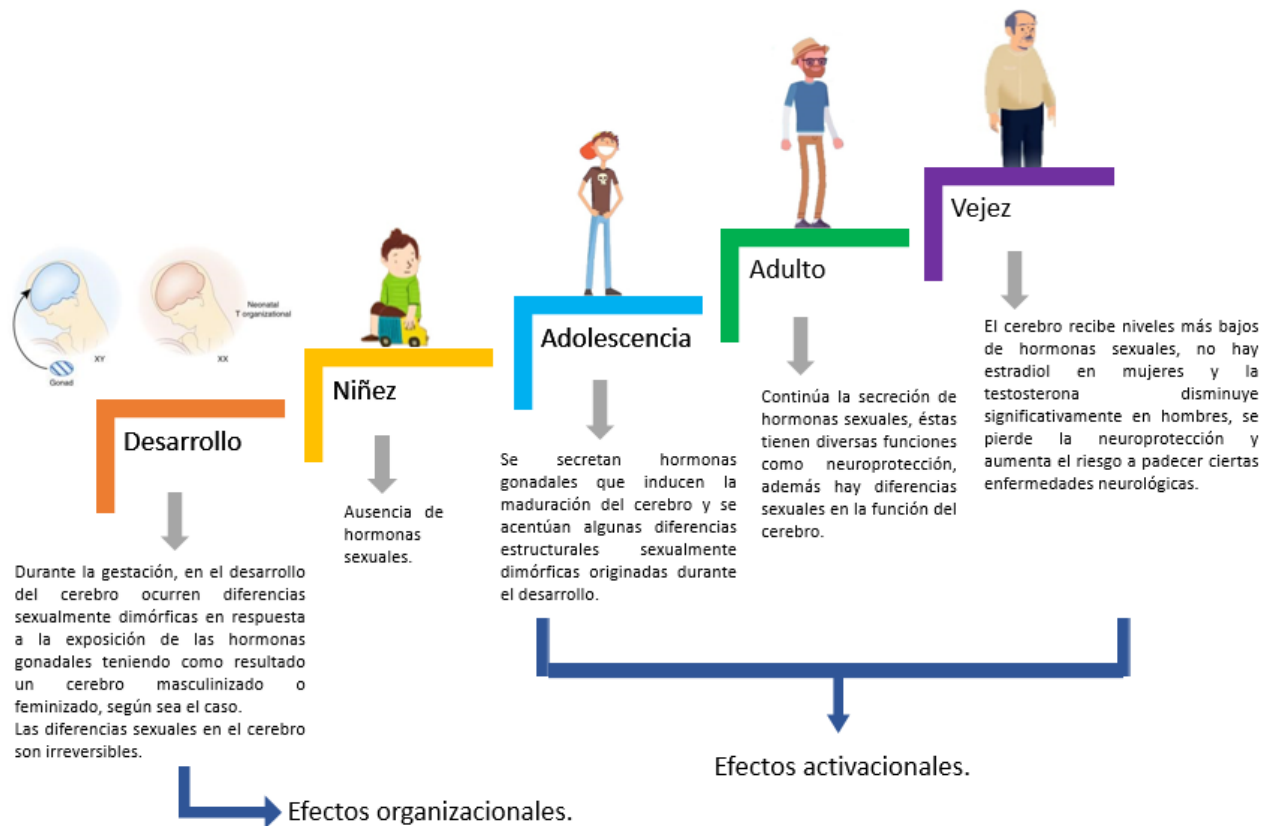


Figura 7. Efectos organizacionales y activacionales de las hormonas sexuales.

Las hormonas sexuales tienen un papel crítico en las diferencias cerebrales entre hombres y mujeres, que se determinan en la vida intrauterina, y se llevan a cabo principalmente por hormonas como testosterona, dihidrotestosterona y estradiol, de esta manera se realiza la desfeminización y posterior masculinización del cerebro en el periodo fetal. Las diferencias sexuales del cerebro van desde el tamaño, volumen y peso de determinadas regiones cerebrales, sistemas de neurotransmisión, así como en el número de receptores (Karaismailoğlu y Erdem, 2013) hasta diferencias en la concentración y síntesis de hormonas sexuales en la vida adulta (tabla 5); igual que en los humanos, esto ocurre en las especies de animales que se usan frecuentemente en el laboratorio (tablas 6 y 7).

Tabla 5. Diferencias en la concentración hormonal en sangre en hombres y mujeres.

	Mujeres		Hombres
	Edad reproductiva	postmenopáusicas	
17β-estradiol	<37-360 pmol/L*(1) 699-1250 pmol/L**(1)	<37-140pmol/L(1)	<37-210 pmol/L (1)
Progesterona	0.3-3 nmol/L*(1) 19-45 nmol/L** (1)	Sin datos	Sin datos
Testosterona	0.7-2.8 nmol/L (1)	0.60 nmol/L (2)	6.9-34.7 nmol/L (1)

*Fase folicular ** Fase lútea

(1) Strauss y FitzGerald, 2019; (2) Hogervorst *et al.*, 2004.**Tabla 6.** Diferencias en la concentración hormonal en sangre en ratas hembra y macho.

Hormona	Hembra (proestro)	Macho
17β-estradiol	115±15 pg/ml (1)	12.97±2.18 pg/ml (3)
Progesterona	60 ng/ml (2)	1.9±0.7 ng/ml (4)
Testosterona	1.2±0.15 ng/ml (1)	3.65±0.45 ng/ml (3)

(1) Guo *et al.*, 2018; (2) Donner y Lowry, 2013; (3) Martínez-Mota *et al.*, 2008; (4) Baulieu., 1998.**Tabla 7.** Diferencias en la concentración hormonal en distintas regiones cerebrales en ratas hembra y macho.

Rata	Hormona	Región cerebral		
		Hipocampo	Hipotálamo	Corteza frontal
Hembra	Estradiol (pg/g)	20±5 (1)	10±2 (1)	115±50 (1)
Macho	Testosterona (ng/g)	4.9±0.7 (2)	1.7±0.3 (1)	1.8±0.4 (1)
	Estradiol (ng/g)	2.3±0.4 (2)	Sin datos	Sin datos

(1) Guo *et al.*, 2018; (2) Hojo *et al.*, 2009.

Se ha observado que tanto el estradiol producido localmente en regiones cerebrales que no están asociadas a la reproducción, así como el que se sintetiza de forma periférica, tiene funciones como regular la neurogénesis, el desarrollo neural, la transmisión y plasticidad sináptica (Brocca y Garcia-Segura, 2019). Los estrógenos tienen la función de neuroprotección en el cerebro, ya que protegen a las neuronas del daño excitotóxico que puede ocasionarse debido a convulsiones o accidentes cerebrovasculares, también protegen contra enfermedades como el Parkinson y Alzheimer. Además, el estradiol induce cambios morfológicos y funcionales en el hipocampo, por ejemplo, en los adultos regula la neurogénesis (Azcoitia *et al.*, 2011). De forma interesante, los estudios en ratonas *knock-out* de la enzima aromatasa demuestran el papel crítico que juega la síntesis local (cerebral) de estrógenos en la protección, ya que el daño isquémico es mayor en estos animales transgénicos que en los animales silvestres a los que se les eliminaron las hormonas sexuales mediante ovariectomía (McEwen y Milner, 2017).

1.4 Aromatasa y diferencias sexuales cerebrales

1.4.1 Aromatasa y síntesis de estradiol

Aromatasa es una enzima que pertenece a la superfamilia del citocromo P450, tiene la función de convertir C19 andrógenos a C18 estrógenos. En humanos, la aromatasa es el producto del gen CYP19A1 en el cromosoma 15q21.1, y consiste en un grupo hemo y una cadena polipeptídica de 503 residuos de aminoácidos. De acuerdo con Ghosh y cols. (2009) esta enzima está conformada por 12 α -hélices y 10 β -filamentos distribuidos en una hoja β principal, la cual, está constituida de 4 filamentos que comienzan cerca del N-terminal y tres hojas secundarias que consisten en dos filamentos antiparalelos distribuidos sobre la cadena polipeptídica (figura 8).

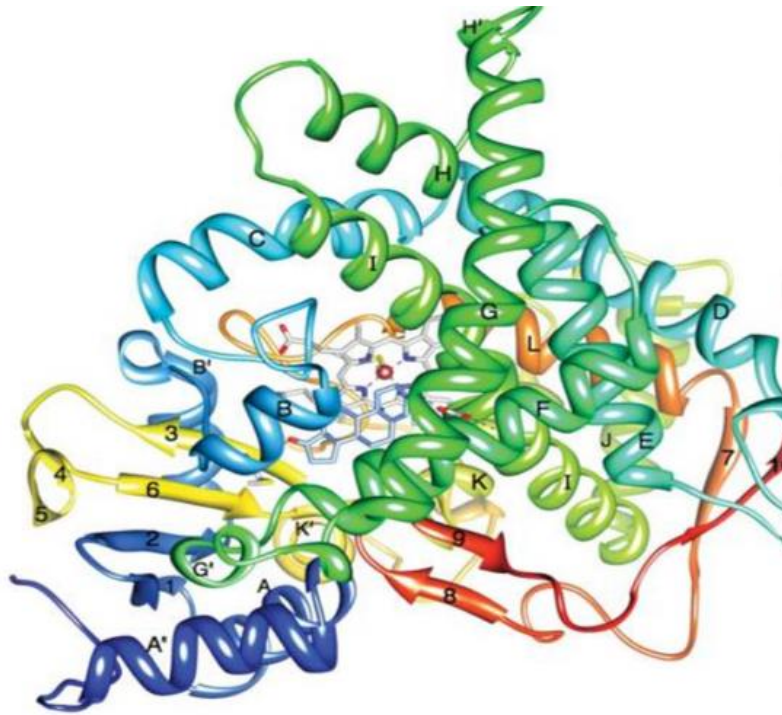


Figura 8. Estructura de la aromatasa.

N-terminal en color azul, C-terminal en color rojo; α -hélice marcados de A-L; β -filamento enumerados de 1-10; Al centro, grupo hemo, unido a una molécula de androstenediona en el sitio activo, se muestran las uniones polares. (Tomado y modificado de Ghosh *et al.*, 2010).

La regulación y expresión de la aromatasa depende de factores genómicos, no genómicos y epigenéticos; la regulación es diferente entre sexos y varía a través de la edad (Shay *et al.*, 2018). La expresión de aromatasa en ovarios se regula mediante andrógenos, principalmente testosterona; se ha observado en modelos animales que esta hormona ocasiona un aumento en la expresión de aromatasa en las células granulosas (Stocco, 2008). Experimentos realizados en ratas y primates no humanos demostraron que en regiones como el área preóptica e hipotálamo, los andrógenos regulan el mRNA que codifica a la aromatasa a través de la transcripción mediada por receptores a andrógenos (Roselli *et al.*, 2009). La actividad de aromatasa también está regulada mediante mecanismos post transcripcionales como la fosforilación en donde la actividad enzimática es regulada a la baja (Harada, 2015), específicamente en el hipotálamo esta regulación se debe a la exposición a ciertas condiciones que aumentan la fosforilación tales como, una alta concentración de calcio, magnesio o ATP (Roselli *et al.*, 2009) y; en la desfosforilación causada por una disminución

de calcio (Fester *et al.*, 2016) los niveles de la actividad de la enzima se restauran (Harada, 2015).

En mujeres, la aromatasa se expresa en fibroblastos de la piel (Nelson y Bulun, 2001), osteoblastos en los huesos (Nelson y Bulun, 2001), astrocitos, oligodendrocitos, células ependimarias, células del plexo coroideo, interneuronas, células piramidales y granulares del cerebro (Ishunina *et al.*, 2005; Yague *et al.*, 2006; Yague *et al.*, 2010 y Luchetti *et al.*, 2011); células de la granulosa en los ovarios (Fuentes y Silveyra, 2019); en el sincitiotrofoblasto de la placenta (Nelson y Bulun, 2001) y en células estromales del tejido adiposo (Nelson y Bulun, 2001). La aromatasa tiene actividad en tejidos gonadales y extragonadales como en células estromales del tejido adiposo (Nelson y Bulun, 2001); en osteoblastos y osteoclastos de huesos (Cui *et al.*, 2013); y en cerebro (Shay *et al.*, 2018).

La conversión que realiza aromatasa se observa en la figura 9 y puede darse con 3 diferentes sustratos: de testosterona a estradiol, de androstenediona a estrona, o de 16α -OH-DHEA a estriol (Azcoitia *et al.*, 2011).

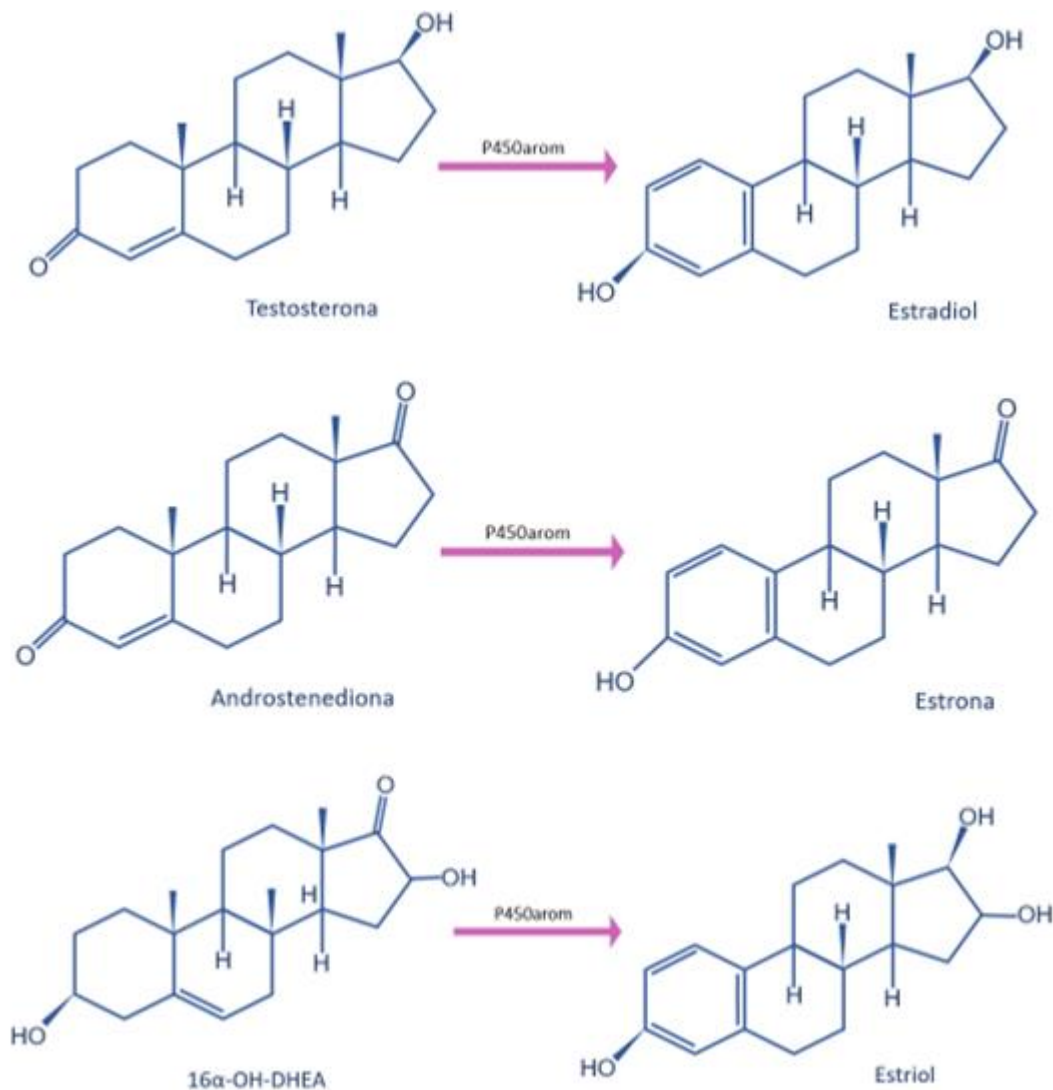


Figura 9. Conversión de andrógenos a estrógenos.

La expresión, actividad y transcripción de aromatasa en el cerebro varía entre especies y en diferentes tipos celulares (tabla 8). Se ha reportado su expresión y transcripción en el hipotálamo, área preóptica y bulbo olfatorio de peces (*Danio rerio*) (Diotel *et al.*, 2010 y Tong *et al.*, 2001); expresión de aromatasa en el área preóptica y prosencéfalo de reptiles (*Chrysemis picta*) (Callard *et al.*, 1977) y; actividad de aromatasa en el área preóptica y prosencéfalo en aves (*Streptopelia risoria*) (Steimer y Hutchison, 1980). En ratas albinas

(cepa Sprague-Dawley) se ha encontrado expresión de la enzima en hipotálamo y sistema límbico (área septal lateral y núcleo de la cama de la estría terminal) (Jakab *et al.*, 1993); transcripción en área preóptica, núcleo hipotalámico ventromedial, amígdala e hipocampo (Tabatadze *et al.*, 2014 y Roselli *et al.*, 1998); y actividad en hipotálamo, área preóptica, amígdala y los núcleos hipotalámicos lateral, anterior y ventromedial (Roselli *et al.*, 1985 y Semalnoff *et al.*, 1977). En primates no humanos (*Macaca mulatta*) se reportan niveles de actividad de aromatasa en área preóptica, hipocampo, amígdala y cortezas (prefrontal cingulada, parietal, somatosensorial y motora) (Yague *et al.*, 2008); además, hay expresión de aromatasa en el hipocampo y en corteza temporal (MacLusky *et al.*, 1986). En cerebro humano, los estudios muestran que esta enzima se encuentra en áreas hipotalámicas y sistema límbico, que son estructuras relevantes para la depresión (tabla 9).

Tabla 8. Tipos celulares en los que se encuentra aromatasa en diferentes especies.

Especie	Aromatasa	Tipos celulares
Pez (<i>Danio rerio</i>)	Expresión	Células gliales ^{1*}
	Transcripción	Células gliales ^{1*}
Rata Sprague-Dawley	Expresión	Neuronas ^{7**}
Primate no humano (<i>Macaca mulatta</i>)	Expresión	Neuronas: Células piramidales ² y granulares ²
Humano	Expresión	Células gliales: Astrocitos ^{3,4,6} y oligodendrocitos ³ Neuronas: Células endimarias ³ , células del plexo coroideo ³ , células piramidales ^{4,5} , granulares ⁵ e Interneuronas ^{4,5}
	Transcripción	Células gliales: Astrocitos ³ , oligodendrocitos ³ Neuronas ^{2**}

¹Diotel *et al.*, 2010; ²Yague *et al.*, 2008; ³Ishunina *et al.*, 2005; ⁴Yague *et al.*, 2006; ⁵Yague *et al.*, 2010; ⁶Luchetti *et al.*, 2011; ⁷Jakab *et al.*, 1993.

* El autor no especifica qué células gliales.

** El autor no especifica qué tipos de neuronas.

Tabla 9. Expresión, actividad y transcripción de aromatasa en cerebro humano.

Aromatasa	Hipotálamo	Amígdala	Hipocampo	Prosencéfalo	Tálamo	Pons	Corteza			Núcleo hipotalámico				
							Prefrontal	Frontal	Temporal	Lateral	Mamilar	Paraventricular	Ventromedial	
Expresión			X(3)	X(4)							X(4)	X(4)	X(4)	X(4)
Actividad	X(1)							X(6)	X(6)					
Transcripción	X(2)	X(2)	X(2)	X(4)	X(2)	X(2)	X(5)		X(7)		X(4)			

(1) Naftolin *et al.*, 1971; (2) Sasano *et al.*, 1998; (3) Yague *et al.*, 2010; (4) Ishunina *et al.*, 2005; (5) Luchetti *et al.*, 2011; (6) Wosniak *et al.*, 1998; (7) Yague *et al.*, 2006.

Estudios en modelos animales muestran que la actividad de aromatasa cerebral difiere entre sexos. En ratas macho se encontró una mayor actividad de aromatasa en el área preóptica, la amígdala (Roselli *et al.*, 1985) y en subregiones del hipotálamo (Shay *et al.*, 2018) en comparación con hembras. Además, machos castrados presentaron actividad de aromatasa en el hipotálamo en niveles similares a los de ratas hembra intactas; posteriormente, se observó que los niveles de la actividad de esta enzima se regularon con la restitución de testosterona a los machos castrados. En el sistema límbico, en áreas como la amígdala media y el núcleo del lecho de la estría terminal (BnST) sucede lo mismo (figura 10), indicando que en estas áreas la actividad de la aromatasa es regulada por los andrógenos circulantes (Roselli *et al.*, 1985).

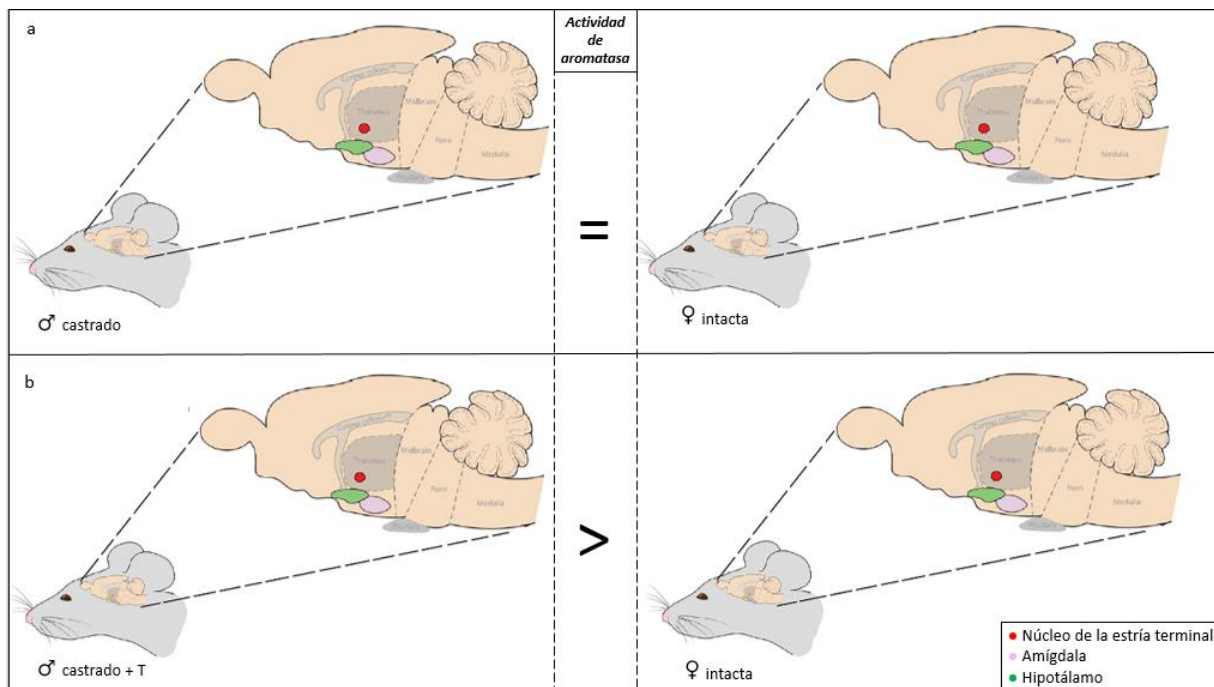


Figura 10. Actividad de la aromatasa en distintas regiones cerebrales de rata hembra y macho. (a) Niveles de la actividad de aromatasa en machos castrados y hembras intactas y; (b) Actividad de aromatasa de machos castrados con restitución de testosterona y hembras intactas. (Tomado y modificado de Shay *et al.*, 2018).

Cabe mencionar que, en algunas áreas del hipotálamo como en el núcleo preóptico periventricular, núcleo preóptico medio, núcleo supraquiasmático, núcleo preóptico lateral y núcleo supraóptico existe una alta actividad de aromatasa. Sin embargo, en áreas como el giro dentado a pesar de que existe una gran cantidad de receptores a andrógenos (hormonas que son el sustrato de la enzima), no se observa actividad de aromatasa; se ha llegado a esta conclusión debido a que hay subpoblaciones de neuronas que no poseen estrógenos producidos por esta enzima (Roselli *et al.*, 1985).

1.4.2 Papel de la aromatasa en las funciones cerebrales

La aromatasa posee distintas funciones cerebrales, en tanto que es un mecanismo importante para la producción *in situ* de estrógenos.

Se ha observado que durante el envejecimiento hay una disminución de esta enzima, dicha disminución podría estar involucrada en el riesgo de padecer enfermedades neurológicas como depresión o Alzheimer (Shay *et al.*, 2018). La expresión de aromatasa en el hipocampo, tálamo, corteza cerebral y cerebelo está involucrada en la regulación de la plasticidad sináptica que se evaluó mediante el número de contactos sinápticos. Un estudio reveló que la combinación de letrozol, un inhibidor de la aromatasa, y la ovariectomía, afectó la cantidad de contactos sinápticos en mayor medida que sólo la ovariectomía (Zhou y cols., en 2010).

Hill y cols. en 2009, demostraron que la aromatasa tiene un papel en la supervivencia celular; utilizaron ratones hembra *knockout* de aromatasa (arKO) y ratones silvestres (WT) de un año de edad, que fueron tratados con estradiol o vehículo. Posteriormente los animales fueron sacrificados y el cerebro se removió, las células que experimentaron una apoptosis en la corteza frontal fueron marcadas y analizadas bajo un microscopio de fluorescencia. Se encontró un menor número de neuronas en la corteza de las hembras arKO que en la de hembras WT, de un año de edad. También encontraron rupturas del DNA en la corteza prefrontal de los animales arKO, que fue prevenido con tratamiento con estradiol. En las hembras WT no se encontraron rupturas del DNA. Además, en los animales arKO se observó la presencia de caspasa-3 (proteína clave en la señal apoptótica). La pérdida neuronal

significativa en los animales arKO demuestra que el estrógeno es requerido para mantener la supervivencia de las neuronas en la corteza frontal durante la vida adulta.

Además, se ha observado que, la aromatasa está involucrada en neurogénesis del bulbo olfatorio, en un estudio se utilizaron ratones hembra arKO y WT, se evaluó el efecto de la ovariectomía sobre la neurogénesis a través de inmunohistoquímica. Se encontró que las ratonas arKO intactas u ovariectomizadas tuvieron un número significativamente menor de nuevas células granulares en el bulbo olfatorio accesorio en comparación con ratonas WT intactas u ovariectomizadas, este efecto fue reversible con el tratamiento con estradiol, en donde no hay diferencia en el número de células nuevas en ambos grupos (Veyrac y Bakker, 2011).

La aromatasa también está involucrada en la regulación de los RE, debido a que existe una correlación positiva entre la expresión de aromatasa y la distribución de los RE (Azcoitia *et al.*, 2011).

1.4.3 Inhibidores de aromatasa

Los inhibidores de la aromatasa son fármacos que inhiben la actividad de la enzima. Se clasifican como inhibidores tipo 1 (esteroideos) e inhibidores tipo 2 (no esteroideos). Los inhibidores de tipo 1 son inactivadores irreversibles que se unen competitivamente a la enzima y la inactivan de manera permanente, son inhibidores análogos del sustrato de aromatasa, tienen forma similar a androstenediona, el cual es un andrógeno que presenta una gran afinidad por la enzima. Ejemplos de estos inhibidores son el formestano y el exemestano (figura 11).

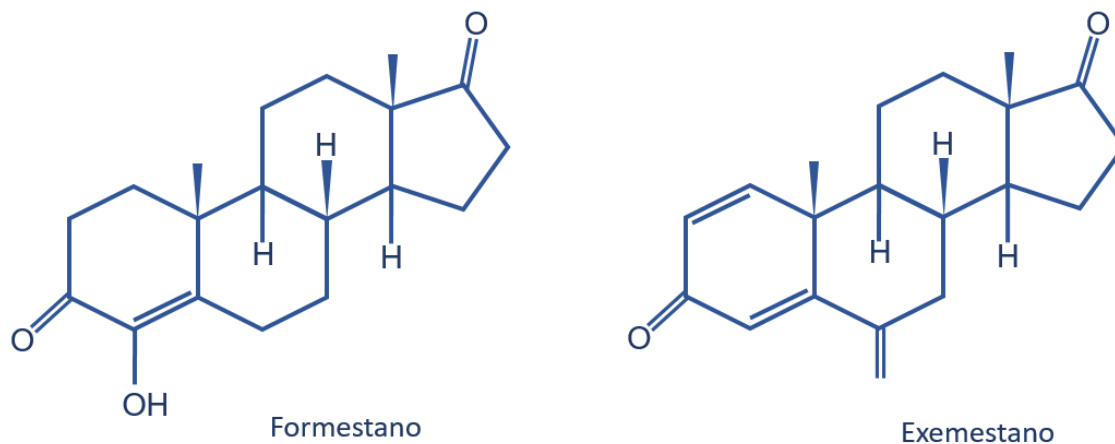


Figura 11. Inhibidores de la aromatasa tipo 1.

Los inhibidores de tipo 2 son inactivadores no permanentes (reversibles) y tienen acción en el citocromo P450, se unen al grupo hemo de la enzima aromatasa por coordinación a través de un átomo de nitrógeno básico. Ejemplos de estos inhibidores son el letrozol, el anastrozol y el vorozol (figura 12).

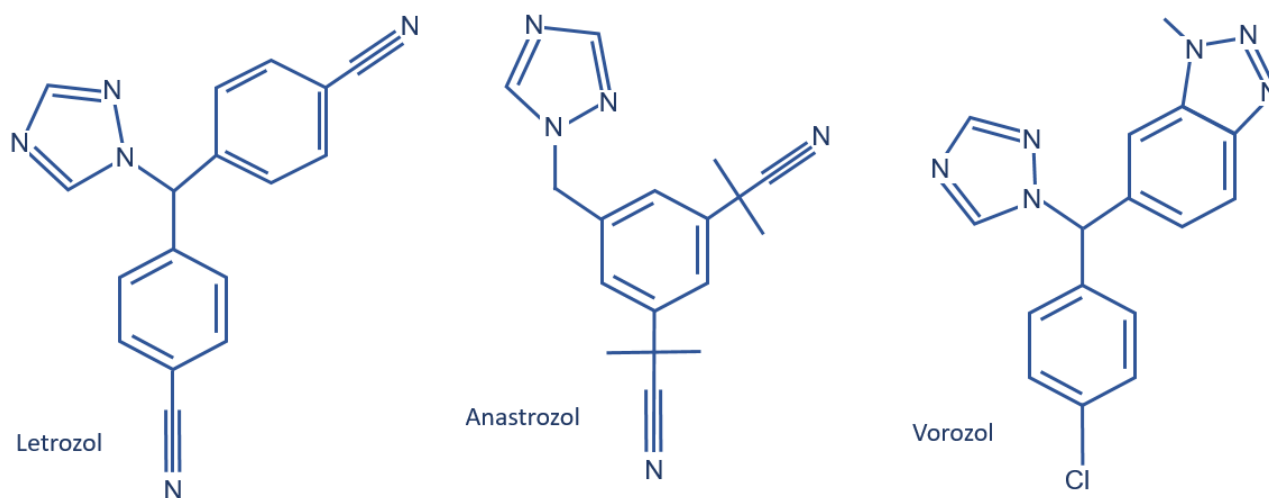


Figura 12. Inhibidores de la aromatasa tipo 2.

Ambos tipos de inhibidores enzimáticos son utilizados clínicamente en mujeres con cáncer de mama dependiente de hormonas debido a que se ha observado que aproximadamente $\frac{2}{3}$ de los tumores poseen actividad de aromatasa, lo que indica que el tejido tumoral produce estrógenos localmente (Carlini *et al.*, 2001). Además, en estudios realizados por Brodie y Njar (2000) se demostró que los niveles de estrógeno son más altos en los tumores de mujeres post menopáusicas con cáncer de mama en comparación con los niveles en plasma, esto sugiere que los estrógenos que se producen localmente pueden tener un papel en la proliferación del tumor.

En mujeres postmenopáusicas, el tratamiento con formestano reduce los niveles de estradiol entre 50-70% (Wiseman y McTavish, 1993). En pacientes con cáncer de mama con enfermedad avanzada se observó que el uso de formestano ocasiona una regresión parcial o total del tumor en 25-39% de las mujeres (Carlini *et al.*, 2001). En mujeres que tienen resistencia al tratamiento con formestano, al ser administrado en conjunto con goserelina (un agonista de la hormona liberadora de gonadotropina -GnRH- que se utiliza en ciertos pacientes para tratar el cáncer de seno avanzado), la supresión de estradiol es mayor que si se administra goserelina como única intervención (Wiseman y McTavish, 1993). Estudios en ratas hembra demostraron que formestano es efectivo en la reducción de los niveles de estrógenos ováricos, además causa regresión de los tumores mamarios dependientes de hormonas (Brodie y Njar, 2000).

Cuando es administrado de manera intramuscular se forma un depósito del fármaco, el cual, es absorbido lentamente en la circulación sanguínea. Las concentraciones máximas en plasma se alcanzan dentro de 1 y 2 días después de aplicar una sola dosis. Este fármaco está sujeto a un metabolismo hepático rápido. Los principales metabolitos que se han logrado identificar son conjugados de glucurónido como 4-hidroxitestosterona y 3 α -hidroxi-5 β -androstano-4,17-diona. La eliminación en plasma del fármaco es bifásica: la eliminación de la vida media del fármaco sucede 2-4 días, y la eliminación total del fármaco es hasta los 10 días (Wiseman y McTavish, 1993).

1.5 Modulación de la respuesta a antidepresivos por estradiol

Estudios en animales confirman que los estrógenos mejoran o facilitan los efectos antidepresivos de FLX en hembras ovariectomizadas. Tales estudios indican que incluso dosis subóptimas de estradiol (que por sí mismas no producen efecto tipo antidepresivo en la prueba de nado forzado) mejoran el efecto del SSRI (Estrada-Camarena *et al.*, 2004). Esta información ha sido confirmada en una gran cantidad de estudios preclínicos utilizando ratas de laboratorio. Un estudio con ratas hembra ovariectomizadas tratadas con escitalopram demostró que si se administra en conjunto con estradiol la efectividad del antidepresivo es mayor que si se administra solo (Ibrahim *et al.*, 2016). En ratas hembra en las fases del ciclo estral en las que hay una mayor cantidad de estradiol (estro y proestro), los fármacos antidepresivos tales como clorimipramina y desipramina son más efectivos que en las fases donde los niveles hormonales son bajos (diestro) (Consoli *et al.*, 2005; Contreras *et al.*, 2000). También se encontró que los estrógenos no sólo aumentan los efectos antidepresivos de fluoxetina, venlafaxina y desipramina sino que, además disminuyen drásticamente la latencia de aparición del efecto tipo antidepresivo del fármaco (Estrada-Camarena *et al.*, 2010).

De forma interesante, se ha observado que los estrógenos son moduladores para la respuesta de antidepresivos serotoninérgicos. Tal papel modulador se evidencia en los efectos de FLX en ratas con diferentes tiempos postovariectomía (povx), a las que se les administra FLX o estradiol, y se observa que el primer tratamiento es efectivo incluso hasta 12 semanas povx, mientras que el estradiol pierde su efecto en este periodo de privación hormonal (Estrada-Camarena *et al.*, 2011). Este resultado nos lleva a pensar en varias posibilidades, una de ellas es que el efecto tipo antidepresivo de FLX se mantiene siempre en la hembra, independientemente de su condición endocrina y por razones de ser hembra como sexo biológico; un reporte apoya esta idea (Recamier-Carballo *et al.*, 2012). Sin embargo, otro trabajo menciona que el tratamiento con FLX es incapaz de generar resiliencia en hembras de mediana edad (que no son reproductivamente competentes) expuestas a estrés crónico (Mahmoud *et al.*, 2016) lo que sugiere que algunas variables, tales como la edad y los cambios endocrinos asociados a ésta, sí tendrían un papel modulador en el efecto del antidepresivo. Otra posibilidad es que en hembras ovariectomizadas el efecto tipo

antidepresivo de FLX sea mantenido por estrógenos que provienen de fuentes extragonadales, tales como los de origen cerebral y en las que participa la aromatasa.

1.6 Modelos animales de depresión

1.6.1 Métodos para evaluar el efecto de fármacos antidepresivos

Los modelos animales para el estudio de la depresión son herramientas que se utilizan en el laboratorio para analizar las bases neurobiológicas de la depresión, los tratamientos que podrían ser efectivos para disminuir los síntomas depresivos, los mecanismos de acción de dichos tratamientos, y para generar nuevas hipótesis que aporten información valiosa a las teorías que explican el desorden. Las pruebas en animales para el estudio de la depresión se fundamentan en factores etiológicos tanto de tipo biológico (genético, neuroquímico) como medioambiental (exposición a estresores). Para que los resultados puedan ser robustos y publicables, estos modelos se miden contra criterios de validez que dan apoyo a diferentes aspectos de un modelo animal; a continuación se describen los criterios de validez de acuerdo con McArthur y Borsini (2006):

1. **Apariencia:** Debe haber una similitud entre la conducta del modelo animal y los síntomas específicos del trastorno en los humanos. Este criterio no es necesario ni suficiente para establecer el modelo.
2. **Etiológica:** La validez etiológica está cercanamente relacionada con las causas del trastorno en los humanos. Cuando la etiología del trastorno en el humano está establecida el modelo se vuelve sumamente útil pero raramente se conocen las causas de los trastornos de conducta. Así que, esta validez se ve limitada para el trastorno de la depresión.
3. **Constructo:** Está cercanamente relacionada a la patología, la sintomatología del trastorno y a la precisión en la cual los cambios en el organismo del modelo animal se reflejan en el humano. Por ejemplo, la similitud que debe haber en los cambios neuroquímicos o endocrinológicos en las personas deprimidas y en los sujetos deprimidos del modelo animal.

4. Predictivo: La capacidad de predecir cambios en los humanos a partir de los cambios que ocurren en el modelo. Por lo anterior, es necesario tener un control constante de la realidad con medidas clínicas para poder asegurar que los cambios en el modelo corresponden a los cambios que ocurren en el ser humano.

Existen distintos métodos para evaluar la depresión, a continuación, se describen algunos de los más utilizados:

1. Desesperanza aprendida: Es la prueba más común, está basada en la desesperanza aprendida, ésta se induce cuando los animales son expuestos a eventos de estrés de los que no pueden escapar, como descargas eléctricas en las patas; después de estar expuestos a este estrés sin tener la posibilidad de escapar, se les da la oportunidad de escapar presionando una palanca, la mayoría de los animales que estuvieron expuestos a esos eventos estresantes incontrolables no aprenden a escapar. Lo anterior se ha equiparado con la impotencia que presentan los humanos depresivos (Dalla *et al.*, 2010).
2. Estrés crónico moderado: Esta prueba se enfoca en un síntoma núcleo de la depresión, la anhedonia. Involucra la exposición continua a una variedad de estresores, por ejemplo, periodos de privación de agua y comida, reducción de la temperatura o cambios de compañeros de alojamiento. Estos estresores ocasionan una reducción en la ingesta de solución de sacarosa lo que se explicaría como una inducción de anhedonia, también se pueden observar alteraciones del sueño (Dalla *et al.*, 2010).
3. Derrota social crónica: En ésta, los animales están expuestos a un estrés visual, estrés olfativo o contacto físico, lo cual, induce en la rata una disminución de la actividad locomotora, también se observa una reducción de las conductas agresivas y entusiastas y, un incremento en el comportamiento sumiso, ansiedad y estrés (Song y Kim, 2021).
4. Prueba de nado forzado: Es un modelo de estrés agudo que tiene un fundamento similar a la desesperanza aprendida. Los animales son forzados a nadar en un cilindro con agua, durante una primera exposición se genera estrés suficiente para que el animal inicie con conductas de esfuerzo y gradualmente deje estas conductas y manifieste la inmovilidad. Veinticuatro horas después, los roedores expresan un

predominio de inmovilidad, que es reversible por fármacos antidepresivos (McArthur y Borsini, 2006).

PNF

La PNF es un paradigma utilizado para el estudio de la depresión, no es un modelo del trastorno per se, es un procedimiento que es capaz de producir cambios en la conducta de los roedores que pueden incrementarse por condiciones asociadas con la depresión (McArthur y Borsini, 2006). El modelo propuesto originalmente por Porsolt y cols. en 1977 y 1978, está basado en la desesperanza aprendida la cual se produce cuando las ratas son colocadas en el cilindro con agua por 15 minutos (preprueba), durante este tiempo se le induce a la rata un estado de desesperanza, eso sucede debido a que la rata es incapaz de escapar de la situación de estrés lo que produce déficits conductuales tanto en el afecto, en la cognición, en el sueño, así como en el rendimiento motor. Lo anterior se asemeja de manera cercana a muchos de los síntomas de la depresión. La conducta de inmovilidad tiene cierto parecido a la fatiga y a la pérdida de energía que se describen en el DSM-IV (McArthur y Borsini, 2006), sin embargo, esta pérdida de la energía no tiene un origen exclusivamente metabólico. Veinticuatro horas después de la preprueba, cuando las ratas son sometidas nuevamente a una prueba (5 min) expresan mayor conducta de inmovilidad, es decir, desesperanza, que es reducida con antidepresivos, así como con terapias antidepresivas no farmacológicas.

El modelo es sensible a los fármacos antidepresivos que son efectivos y utilizados en la clínica. El modelo utilizado en la presente tesis es la versión modificada descrita por Irving Lucki y colaboradores (Detke *et al.*, 1995). La prueba de PNF, de acuerdo con Detke et al. (1995) está basada en observaciones de la conducta de los roedores dentro de un cilindro con agua a una profundidad en donde el animal sea incapaz de tocar la base del cilindro. Dichas conductas se clasifican en conducta pasiva (inmovilidad) y conductas activas (nado y escalamiento). Se define como inmovilidad cuando la rata se encuentra flotando en el agua, realizando sólo los movimientos necesarios para mantener su cabeza fuera del agua; la inmovilidad se interpreta como un estado de desesperanza en la cual el roedor deja de intentar escapar de la situación de estrés, este estado produce déficits conductuales los cuales están relacionados con los síntomas depresivos (Porsolt et al., 1978). Se considera nado cuando

hay movimientos activos de desplazamiento de la rata, éstos son más de los necesarios para que su cabeza permanezca fuera del agua, la rata puede bucear o moverse a través de cuadrantes alrededor del cilindro. El escalamiento es cuando se presentan movimientos activos con las patas delanteras dentro y fuera del agua, usualmente estos movimientos se realizan directamente en las paredes del cilindro, de una manera en la que la rata intenta salir del mismo (Detke *et al.*, 1995).

La prueba se basa en dos sesiones de nado. La primera, una sesión preprueba que consiste en colocar a la rata dentro del cilindro con agua durante 15 minutos con el fin de inducir desesperanza, ésta genera estrés, reduce la actividad y deteriora la cognición, los cuales son supuestos endofenotipos de la depresión (McArthur y Borsini, 2006). La segunda, es la sesión de prueba, la cual se realiza 24 horas después de la preprueba, en ésta la rata se coloca nuevamente en el cilindro con agua solamente durante 5 minutos, la prueba se graba en video con una cámara colocada sobre el cilindro. Posteriormente, se observan los vídeos de cada una de las pruebas realizadas y se evalúan cada 5 segundos las tres conductas antes mencionadas: inmovilidad, nado y escalamiento.

Con la PNF modificada, se hicieron estudios para conocer el efecto de algunos fármacos antidepresivos y se observó que, la conducta activa de nado incrementa al utilizar específicamente fármacos antidepresivos de tipo SSRI. Además, las nuevas condiciones demostraron tener una mayor sensibilidad a los fármacos, especialmente de los antidepresivos SSRI, en donde las dosis utilizadas para poder observar un aumento en las conductas activas fueron más bajas que en el modelo tradicional (Cryan *et al.*, 2005).

Debido a que las causas de la depresión son poco entendidas porque se trata de un trastorno complejo que dificulta comprenderlo y modelarlo en su totalidad, sin embargo, la PNF cumple con varios criterios de validez que apoyan su uso en el laboratorio (McArthur y Borsini, 2006):

Validez predictiva: debido a que, mediante la conducta de inmovilidad se puede distinguir entre aquellos fármacos que no son antidepresivos de los que sí lo son, de manera que, tratándose de un antidepresivo, la inmovilidad que presente el roedor se verá disminuida, por lo anterior la prueba puede ayudar a la investigación de nuevos fármacos que potencialmente podrían ser antidepresivos (Cryan *et al.*, 2005).

Validez de constructo o validez hipotética: ya que algunas de las bases que sustentan las hipótesis de la depresión (neurotrófica, de redes) también pueden ser puestas a prueba en este modelo (Cryan et al., 2005).

Validez etiológica: Se ha enunciado que el estrés es considerado un factor etiológico de la depresión, por lo tanto, el estrés se utiliza como un factor que desencadena la conducta de inmovilidad en roedores que son sometidos a la PNF. Se sabe que la exposición al nado forzado incrementa los niveles de corticosterona en ratas y que, animales expuestos previamente a estrés crónico tienen mayor conducta de inmovilidad en la PNF (Cryan et al., 2005).

Se ha demostrado que la PNF es sensible a los niveles hormonales (sección 1.5) y a los efectos de los inhibidores de la aromatasa, como lo demostró un estudio en machos que fueron tratados con formestano, en los que se encontró un bloqueo del efecto tipo antidepressivo de la FLX y la desipramina (Martínez-Mota *et al.*, 2008). A su vez, es sensible a cambios en la expresión del SERT ya que las ratas *knock-out* del gen que codifica al SERT muestran un aumento en la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado en comparación con ratas silvestres (Olivier *et al.*, 2008).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Está reportado que las ratas hembra responden a los antidepresivos de manera distinta dependiendo de su concentración de estrógenos. Luego de eliminar la principal fuente de estrógenos que son los ovarios, las ratas hembra 3 spovx responden de la misma manera que antes de la ovx a los fármacos antidepresivos, como la FLX. Lo que sugiere una controversia en el papel de los estrógenos en el efecto de tipo antidepresivo en la hembra. Hasta el momento, se desconoce si la capacidad de las hembras para seguir respondiendo a la FLX se deba a la producción *in situ* de estrógenos cerebrales, o a los estrógenos provenientes de alguna fuente extragonadal. En este trabajo se investigará si el efecto tipo antidepresivo en hembras ovariectomizadas es modulado por la actividad de la aromatasa de fuentes extragonadales, tales como la cerebral.

III. JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado clínicamente y en modelos animales, que los efectos de los fármacos antidepresivos en mujeres son modulados por las concentraciones hormonales. Sin embargo, no está claro si la eficacia de los fármacos antidepresivos depende exclusivamente de las hormonas sexuales que se producen en los ovarios, por lo que el presente estudio puede permitirnos comprender los mecanismos biológicos por los cuales las mujeres son capaces de responder a los antidepresivos aun cuando no hay hormonas sexuales producidas por los ovarios.

IV. HIPÓTESIS

Si en el efecto tipo antidepresivo de la FLX en ratas hembra participan los estrógenos sintetizados en fuentes extragonadales, por ejemplo, en el SNC, huesos, tejido adiposo o glándulas suprarrenales; entonces este efecto se bloqueará con un inhibidor de la aromatasa en las hembras ovariectomizadas.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar si el tratamiento con formestano, un inhibidor de la aromatasas, suprime el efecto tipo antidepresivo de FLX en ratas hembra ovariectomizadas.

5.2 Objetivos específicos

- 1.- Identificar las dosis efectivas de FLX para producir un efecto tipo antidepresivo en ratas hembra, tres semanas después de la ovariectomía.
- 2.- Investigar si el tratamiento con formestano es capaz de bloquear el efecto tipo antidepresivo de una dosis efectiva de FLX en ratas hembra, tres semanas después de la ovariectomía.
- 3.- Determinar si el tratamiento con formestano administrado en conjunto con la dosis efectiva de FLX induce cambios en la actividad locomotora de ratas, tres semanas después de la ovariectomía. El cambio en la actividad locomotora nos indicaría que los resultados observados en la PNF se deben a acciones inespecíficas de los fármacos utilizados.
- 4.- Determinar si hay cambios en el índice útero-somático (IU-S) en respuesta al tratamiento con formestano más la dosis efectiva de FLX, en ratas tres semanas después de la ovariectomía.

VI. MATERIAL Y MÉTODO

6.1 Sujetos

Se emplearon 54 ratas de la cepa Wistar hembra, adultas jóvenes (4-5 meses de edad), con un peso de 250-300 g, obtenidas del bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Las ratas fueron alojadas en grupos de 5 por caja de acrílico (33 x 44 x 20 cm), en un cuarto con ciclo luz/oscuridad invertido (12 h/ 12 h, la luz se encendió a las 22:00 h) y con alimento (Purina Rat Chow) y agua *ad libitum*. Los experimentos se realizaron de acuerdo con el protocolo aprobado por el comité de ética local y siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

6.2 Ovariectomía

Se realizó la cirugía de manera bilateral bajo anestesia con 2,2,2-tribromoetanol administrado de manera i.p. a una dosis de 100 mg/kg (1mL/100g de peso). Se recortó el pelo y se limpió con solución antiséptica el lado derecho de la rata debajo de las costillas, posteriormente se hizo una incisión primero en la piel y luego en el músculo, se expuso el ovario, se ligó el oviducto justo debajo del ovario con sutura absorbible (tamaño triple 0) y se removió el ovario. Se hizo una sutura en el músculo con sutura absorbible, seguido por una sutura en la piel, con seda quirúrgica (Atramat, tamaño triple 0). Finalmente se limpió el área con solución antiséptica para evitar infecciones. Se realizó el mismo procedimiento en el lado izquierdo de la rata correspondiente al segundo ovario (Lemini *et al.*, 2013).

Los animales se regresaron a sus cajas de alojamiento, se les administró antibiótico durante una semana por medio del agua y se mantuvieron alojadas durante 3 semanas. Durante este periodo de tiempo ocurre una disminución drástica de las concentraciones hormonales debido a que, hormonas sexuales como estradiol, se sintetizan mayormente en los ovarios, además ocurren cambios endocrinos en los cuales el organismo se adapta a la nueva condición carente de hormonas, dicha adaptación se produce en al menos 3 semanas

después de la ovariectomía (Detke *et al*, 2011). Además, para evitar que exista algún impedimento físico durante la PNF, es necesario que las heridas cicatricen totalmente.

6.3 Fármacos y tratamientos

6.3.1 Fluoxetina (FLX)

Se utilizó clorhidrato de FLX (Sigma Chemicals Co., MO) en dosis de 5 y 10 mg/kg, disuelta en solución salina al 0.9%. Las dosis y la vía de administración (s.c.) de la FLX fue tomada de estudios donde este fármaco demostró ser efectivo para reducir la conducta de inmovilidad en ratas hembra en la PNF (Estrada-Camarena *et al*, 2011).

6.3.2 Formestano

Se utilizó formestano a una dosis de 17.5 mg/kg, disuelto en una mezcla 1:1 de propilenglicol (Tween 80, Sigma Chemicals Co., MO) y aceite de maíz. La dosis de formestano fue tomada de estudios previos realizados en el laboratorio en donde se demostró que este inhibidor de la aromatasas es capaz de eliminar el efecto tipo antidepresivo de FLX en ratas macho intactas (Martínez-Mota *et al*, 2008). Además, se ha demostrado que esta dosis es capaz de disminuir la actividad de aromatasas cerebral en ratas macho (Yuan *et al*, 1995).

6.4 Prueba de nado forzado (PNF)

Se utilizó un cilindro de vidrio (40 cm de altura x 20 cm de diámetro), con agua a 23 (\pm 2) °C y una profundidad de 30 cm. Se hicieron dos sesiones de nado: La primera fue una preprueba y 24 horas después una prueba.

En la preprueba se introdujeron las ratas individualmente en el cilindro con agua y se les dejó nadando durante 15 minutos con el propósito de inducirles desesperanza, al finalizar, las ratas fueron retiradas del cilindro, secadas con una toalla y colocadas en una caja con calor para completar el secado y evitar cambios en la temperatura corporal. Finalmente fueron regresadas a su caja de alojamiento. La prueba se realizó 24 horas después, en la cual se volvió a introducir a las ratas, de forma individual, en el cilindro con agua pero esta vez durante 5 minutos. La prueba se grabó en video con una cámara colocada sobre el cilindro

con el fin de poder observar la conducta del animal. El registro consistió en determinar la conducta del roedor en intervalos de cada 5 segundos, dando un total de 60 registros por cada rata. Las conductas que se evaluaron fueron tres: inmovilidad, nado y escalamiento. Se registró como inmovilidad cuando la rata flotaba y sólo realizaba los movimientos necesarios para mantener su cabeza fuera del agua; se consideró nado cuando la rata buceaba o realizaba movimientos activos a través de cuadrantes alrededor del cilindro; y escalamiento cuando se presentaron movimientos activos con las patas delanteras dentro y fuera del agua directamente a las paredes del cilindro (Detke et al., 1995).

La conducta de inmovilidad, que refleja desesperanza, disminuye cuando se administran fármacos antidepresivos, los que, a su vez, aumentan las conductas activas de nado y escalamiento. De acuerdo con estudios previos, los antidepresivos SSRI, como la FLX, incrementan la conducta de nado (Cryan *et al*, 2005).

6.5 Prueba de actividad locomotora

Cinco minutos antes de realizar la PNF, a cada una de las ratas se les hizo una prueba de actividad locomotora, para ello, las ratas fueron colocadas de manera individual en una caja de acrílico con una dimensión de 33x44x20 cm, la base de la caja se dividió en cuadrados de 11x11 cm. La prueba consistió en medir mediante sensores infrarrojos el número de cuadrados que la rata cruzó durante un periodo de 5 minutos, esto, con el propósito de determinar si los efectos observados en la PNF se deben al tratamiento administrado o si se deben a cambios en la actividad ambulatoria de cada rata.

6.6 Índice útero-somático (IU-S)

Se tomó el peso corporal de las ratas un día antes de iniciar el tratamiento con formestano. Al finalizar la PNF las ratas fueron sacrificadas, se extrajeron los úteros de cada una de ellas, se tomó el peso húmedo de cada útero en una balanza analítica, posteriormente cada valor del peso obtenido en miligramos de cada útero se normalizó mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Peso útero (mg)}}{\text{Peso corporal (g)}} \times 100$$

6.7 Series experimentales

Experimento 1. Efecto de dos dosis de fluoxetina (FLX) en la PNF.

Se utilizaron 18 ratas hembra ovariectomizadas, tres semanas después de la cirugía fueron divididas al azar en 3 grupos experimentales: 1) Grupo control (n=6), se le administró un tratamiento subcrónico que consiste en 3 inyecciones, en este caso de solución salina en un volumen de 0.2 ml/100g de peso, las inyecciones se hicieron de manera s.c. y se realizaron durante un periodo menor a un día (23.5, 5 y 1 hora antes de realizar la prueba); 2) Grupo FLX 5 (n=7), el tratamiento se administró en una dosis de 5 mg/kg, siguiendo el esquema descrito anteriormente y 3) Grupo FLX 10 (n=5), el tratamiento se administró a una dosis de 10 mg/kg, siguiendo el esquema previamente descrito (figura 13).

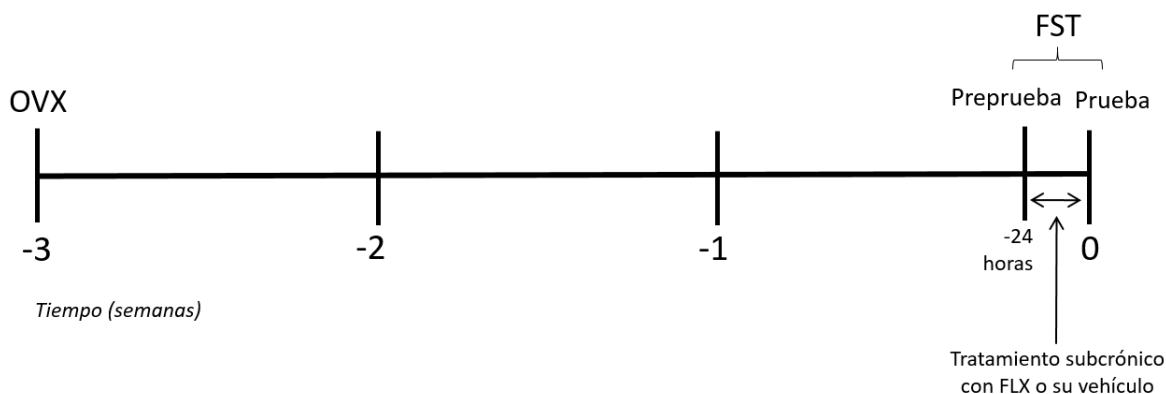


Figura 13. Diseño experimental del efecto de dos dosis de FLX en la PNF.

Experimento 2. Efecto de formestano en la acción antidepressiva de FLX

Se utilizaron 36 ratas hembra ovariectomizadas; tres semanas después de la cirugía se dividieron al azar en 4 grupos: 1) Grupo control (n=10), se le administró vehículo de formestano (mezcla 1:1 de propilenglicol y aceite de maíz, 0.1 ml/kg de peso) + el vehículo de FLX (solución salina 0.9%, 0.2 ml/100g de peso); 2) Grupo formestano (n= 9), formestano (17.5 mg/kg) + vehículo de fluoxetina (solución salina 0.9%); 3) Grupo FLX (n= 7), vehículo

de formestano (mezcla 1:1 de propilenglicol y aceite de maíz) + FLX (10 mg/kg) y 4) Grupo Combinación: formestano (17.5 mg/kg) + FLX (10 mg/kg) (n=10). El tratamiento de formestano y su vehículo fueron administrados en un volumen de 0.1 ml/kg por vía s.c. Se aplicaron inyecciones dos veces al día (8:00 y 16:00 horas) por 3 días; el día 4 se hizo una única y última inyección a las 8:00 horas (en total 7 inyecciones), posteriormente se hizo la preprueba a las 13:00 horas (5 horas después de la última inyección de formestano o su vehículo). FLX y su vehículo se administraron en un volumen de 0.2 ml/kg de manera s.c., se hizo un tratamiento subcrónico al igual que en el experimento 1, con 3 inyecciones entre la preprueba y prueba, a las 23.5, 5 y 1 hora antes de la prueba (tabla 10). Se realizó una prueba de actividad locomotora a cada una de las ratas 5 minutos antes de la prueba de la PNF (figura 14).

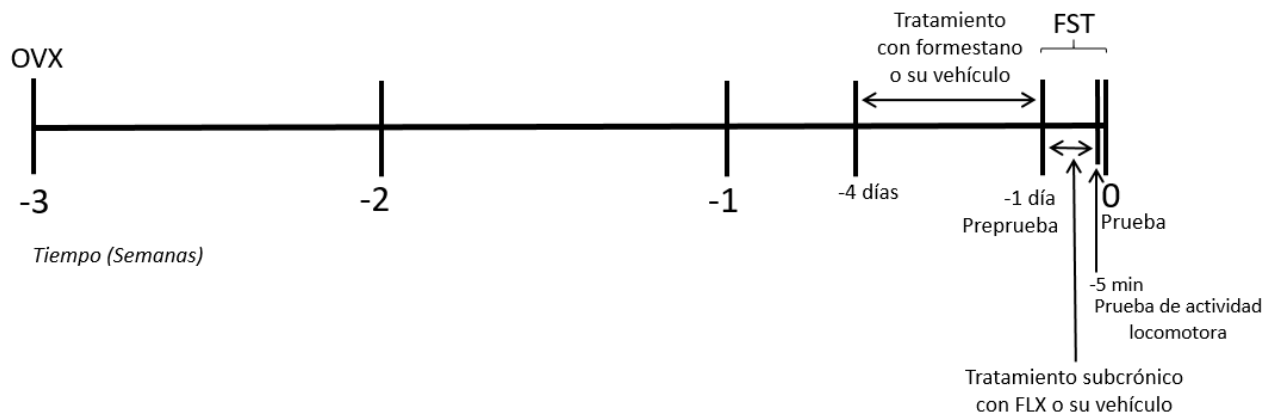


Figura 14. Diseño experimental del efecto de formestano en la acción antidepressiva de FLX.

Tabla 10. Esquema de administración de los fármacos.

Tiempo (horas)	Día				
	-4	-3	-2	-1	0
08:00 am	F o VF	F o VF	F o VF	F o VF	FLX o VFLX
12:00 pm					FLX o VFLX
01:00 pm				PP	P
01:30 pm				FLX o VFLX	
04:00 pm	F o VF	F o VF	F o VF		

Se muestra el horario de administración de los fármacos a cada grupo experimental.

Azul: tratamiento con formestano o su vehículo; rosa: tratamiento con FLX o su vehículo y; gris: FST.

F: formestano (17.5 mg/kg); VF: vehículo de formestano (mezcla 1:1 de propilenglicol y aceite de maíz); FLX: fluoxetina (10 mg/kg); VFLX: vehículo de fluoxetina (solución salina 0.9%); PP: preprueba; P: prueba.

6.8 Análisis estadístico

Los efectos de los tratamientos en la PNF del experimento 1 se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, si el ANOVA fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) entonces se procedió a analizar las diferencias entre grupos con la prueba *post hoc* Holm-Sidak. El efecto del tratamiento con las dos dosis de FLX en el peso de los úteros y en el IU-S se analizaron mediante un ANOVA de una vía.

Los efectos de los distintos tratamientos de la PNF y del peso del útero del experimento 2 se analizaron mediante un ANOVA de una vía, si el ANOVA fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) entonces se procedió a analizar las diferencias entre grupos con la prueba *post hoc* Holm-Sidak. También, los efectos del tratamiento en la prueba de actividad locomotora y del IU-S se analizaron mediante un ANOVA de una vía.

VII. RESULTADOS

7.1 Efecto de FLX en ratas hembra 3 semanas povx

En los resultados obtenidos del experimento 1, el tratamiento con ambas dosis de FLX produjo efectos tanto en la conducta pasiva (inmovilidad) como en las conductas activas (nado y escalamiento).

En la figura 15 se muestran los resultados obtenidos de la PNF. Se puede observar una clara disminución de la inmovilidad ($F_{2,15} = 5.20$; $p = 0.019$), que alcanzó la significancia estadística con la dosis de 10 mg/kg en comparación con el grupo control ($p=0.019$) indicando que la FLX a una dosis de 10 mg/kg produjo un efecto tipo antidepresivo en ratas hembra con 3 semanas povx. Además, la FLX incrementó la conducta de nado ($F_{2,15} = 5.421$; $p = 0.017$) como se ha reportado para los antidepresivos tipo SSRI (Cryan *et al.*, 2005). La dosis baja del antidepresivo (5 mg/kg) fue inefectiva; sin embargo, la dosis más alta del fármaco (10 mg/kg) produjo un aumento significativo de la conducta de nado ($p=0.017$). Para el escalamiento, a pesar de que se observa un aumento, el análisis estadístico no arrojó diferencias significativas con el tratamiento de FLX ($F_{2,15} = 1.455$; $p=0.265$).

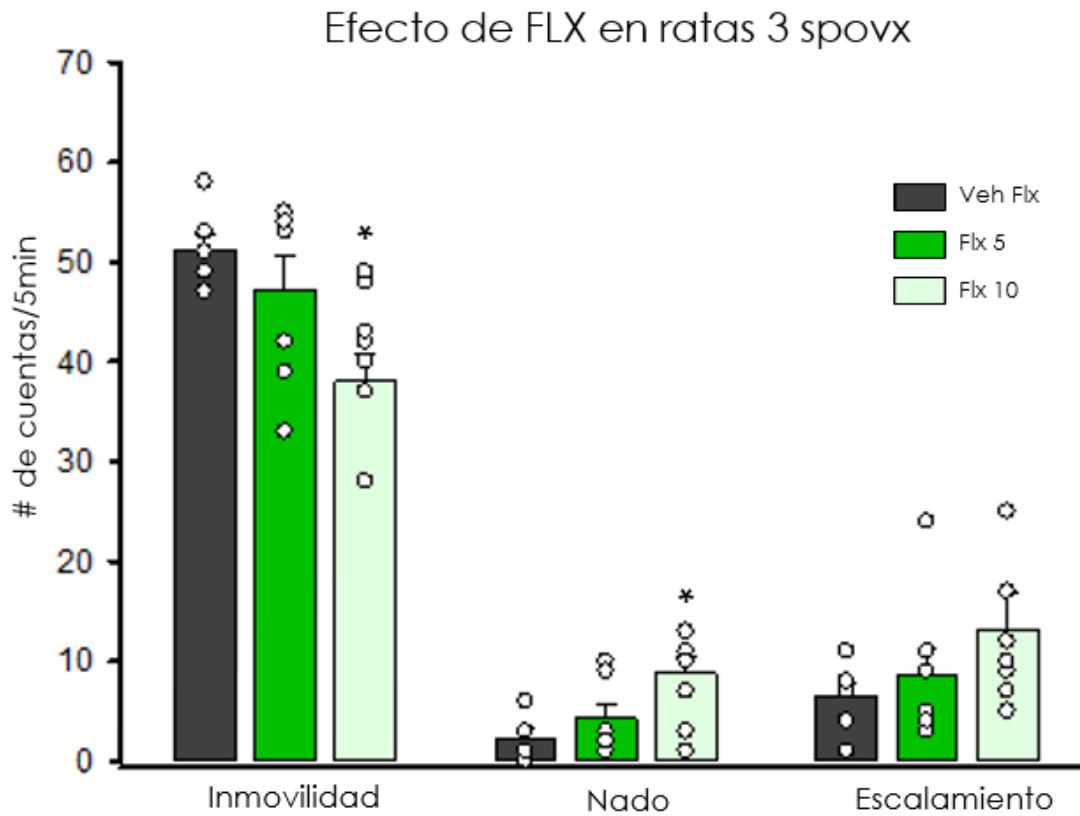


Figura 15. Efecto de diferentes dosis de FLX (5 y 10 mg/kg) en la PNF, en ratas 3 spovx. El histograma muestra el número de cuentas tomadas cada 5 segundos durante 5 minutos de las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento obtenidos en la PNF. Los resultados muestran la media \pm EE de la media. El resultado de la prueba Holm-Sidak fue $*p < 0.05$ vs el grupo control tratado con vehículo.

7.2 Efecto de FLX en el IU-S

En los resultados obtenidos del IU-S del experimento 1, se puede observar que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($F_{2,14} = 1.664$; $p = 0.225$) (figura 16).

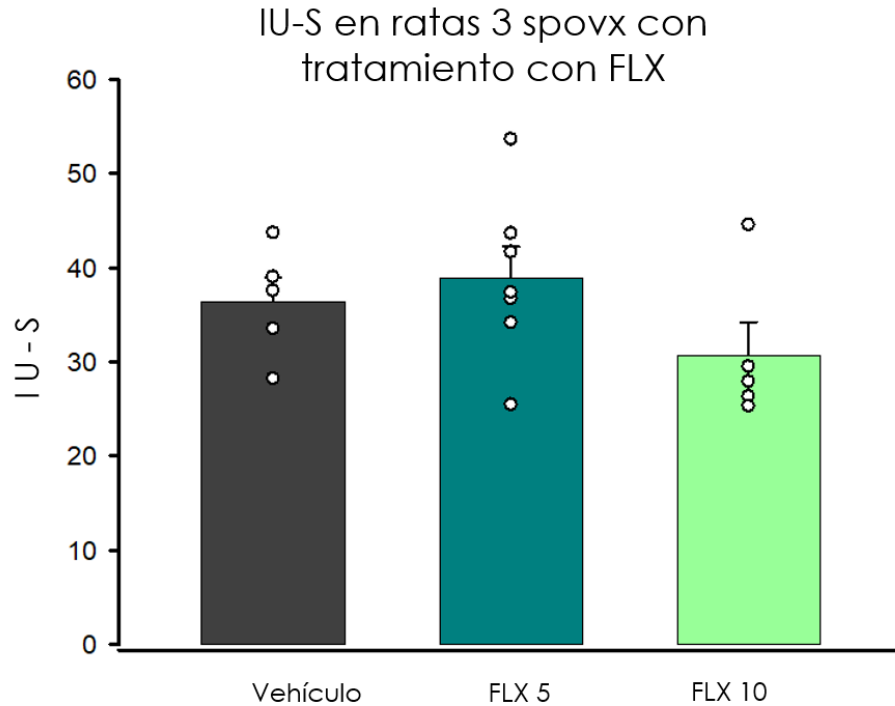


Figura 16. Efecto de FLX (5 y 10mg/kg) en el IU-S en ratas 3 spovx. El histograma muestra los valores del IU-S obtenido a partir de la normalización de los datos del peso corporal (g.) con el peso de los úteros (mg.) de cada una de las ratas. Los resultados muestran la media \pm EE de la media. El resultado del ANOVA de una vía fue $p > 0.05$.

En el peso corporal, la prueba estadística no mostró diferencias significativas entre los grupos ($F_{2,15} = 0.896$; $p = 0.429$) (tabla 11), lo anterior indica que el peso corporal de las ratas al inicio del experimento no fue diferente entre los grupos.

Tabla 11. Peso corporal de ratas 3 spovx con tratamiento de dos dosis de FLX.

Tratamiento	Peso corporal (g.)
Vehículo	305 \pm 12.53
FLX 5	323.07 \pm 13.21
FLX 10	329 \pm 12.15

Se muestra la media \pm EE. El resultado del ANOVA de una vía fue $p > 0.05$

7.3 Efecto de formestano en la acción antidepressiva de la FLX

En la figura 17 se ilustran los resultados obtenidos de la PNF realizada en el experimento 2. En la gráfica se puede observar que los tratamientos fueron diferentes entre sí, como lo muestra el resultado del ANOVA ($F_{3,32} = 4.740$; $p=0.008$). La prueba *post hoc* indica que la FLX a una dosis de 10 mg/kg (grupo Veh For-Flx) redujo la inmovilidad en comparación con el grupo al que se le administró Veh For-Veh Flx (control) ($p=0.016$). Además, se muestra que la administración de formestano en conjunto con FLX (grupo For-Flx) provoca un aumento de la inmovilidad ($p=0.011$) en comparación con el grupo Veh For-Flx, indicando que el efecto tipo antidepressivo de FLX 10 mg/kg es revertido hasta niveles del control cuando dicho antidepressivo se administra conjuntamente con formestano 17 mg/kg. El grupo tratado con Veh Flx-For no tiene diferencia significativa con los grupos Veh For-Veh Flx ($p=0.309$), Veh For-Flx ($p=0.271$) y For-Flx ($p=0.821$), lo anterior indica que formestano administrado por sí solo, no tiene ningún efecto en la inmovilidad en la PNF en ratas 3 spovx.

En la conducta activa de nado, se encontraron diferencias significativas entre los cuatro grupos ($F_{3,32} = 11.929$; $p < 0.001$). La prueba *post hoc* indicó diferencias entre el grupo control (Veh For-Veh Flx) en comparación con el grupo que recibió Veh For-Flx ($p < 0.001$), en este caso, el nado aumentó de manera significativa al igual que en el experimento 1, lo que indica que el Veh For no interfiere en el efecto tipo antidepressivo de FLX 10 mg/kg, el aumento de esta conducta se ve reflejado debido a que se ha reportado que los fármacos antidepressivos SSRI aumentan el nado en la PNF (Cryan *et al.*, 2005). Sin embargo, cuando se administran los dos fármacos juntos (grupo For-Flx), el aumento que se observó anteriormente se elimina y los valores de nado disminuyen significativamente ($p < 0.001$) hasta alcanzar valores similares a los observados en el grupo control (Veh For-Veh Flx). Además, el grupo (For-Veh Flx) sí tiene diferencia con el grupo Veh For-Flx ($p=0.002$), esto se debe a la similitud entre el control (Veh For- Veh FLX) con el grupo que recibió formestano.

En la conducta de escalamiento no se observa ninguna diferencia significativa entre los grupos ($F_{3,32} = 1.296$; $p=0.293$), lo cual indica que FLX y/o formestano no son capaces de modificar esta conducta en la PNF en ratas 3 spovx.

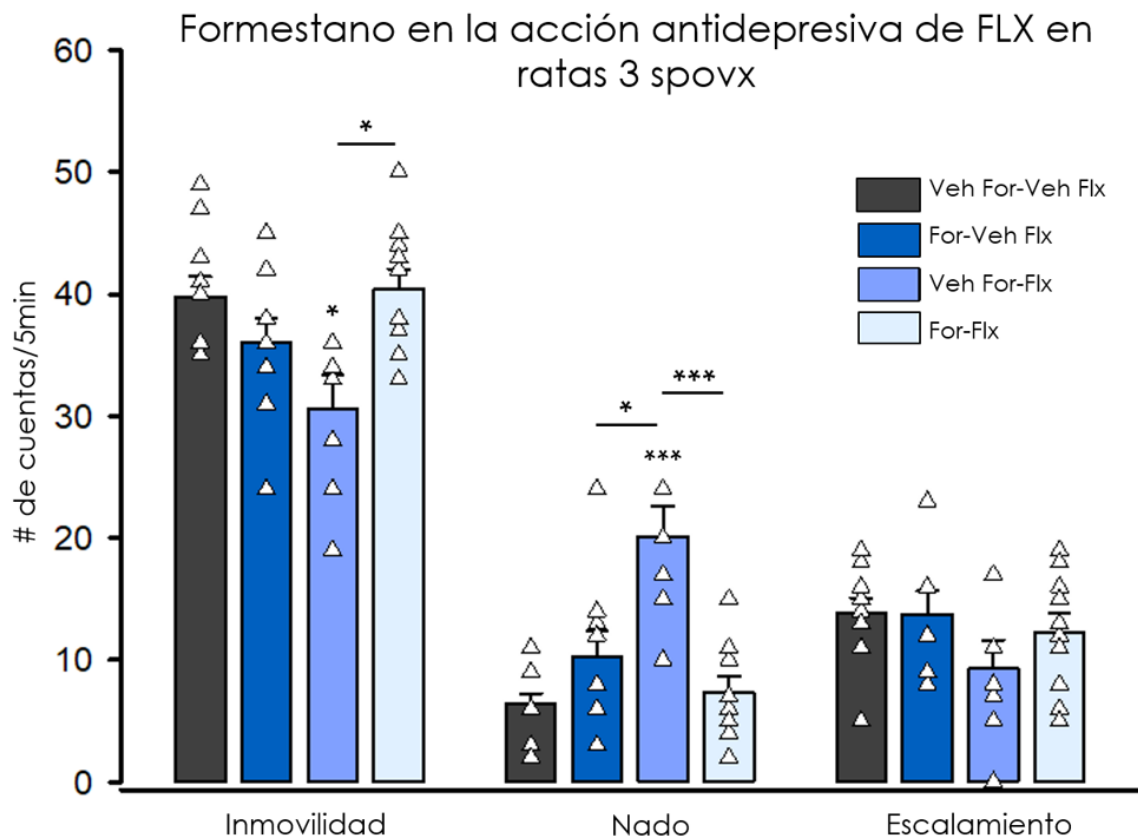


Figura 17. Efecto de formestano (17.5 mg/kg) en la acción antidepresiva de fluoxetina (10mg/kg) evaluada en la PNF, en ratas 3 spovx. El histograma muestra el número de cuentas tomadas cada 5 segundos durante 5 minutos de las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento obtenidos en la PNF. Los resultados muestran la media \pm EE de la media. Los resultados de la prueba Holm-Sidak fueron * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

7.4 Efecto de formestano en el IU-S

En los resultados obtenidos del IU-S del experimento 2, se puede observar que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos experimentales (grupos Veh For-Veh Flx, For-Veh Flx y Veh For-Flx) ($F_{2,23} = 0.1812$; $p = 0.835$). En el cuarto grupo experimental (grupo combinación For-Flx) hubo pérdidas en los tejidos de los úteros por lo que no fue posible incluir estos datos en el análisis estadístico que se realizó.

Por otro lado, la tabla 12 muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas en el peso corporal de las ratas entre los cuatro tratamientos ($F_{3,32} = 0.432$; $p=0.732$).

Tabla 12. Peso corporal de ratas 3 spovx con tratamiento con formestano y FLX.

Tratamiento	Peso corporal (g.)
Veh For - Veh Flx	292.80±7.55
For - Veh Flx	285.44±8.03
Veh For- Flx	286.71±10.48
For - Flx	296.90±7.49

Se muestra la media ± EE. El resultado del ANOVA de una vía fue $p>0.05$

7.5 Efecto de formestano en la actividad locomotora

La tabla 13 muestra que no hay diferencia significativa en la actividad locomotora de las ratas entre los distintos tratamientos. La tabla muestra la actividad ambulatoria ($F_{3,17} = 0.857$; $p=0.482$), estereotipias ($F_{3,17} = 0.484$; $p=0.698$) y exploración vertical (rearings) ($F_{3,17} = 1.099$; $p=0.377$) entre los cuatro grupos.

Tabla 13. Actividad locomotora de ratas 3 spovx con tratamiento con formestano y FLX.

Tratamiento	AMB	STE	REA
Veh For - Veh Flx	1200.40±273.64	805.60±76.71	33.40±6.01
For - Veh Flx	1367.67±164.23	926.67±44.23	39.83±5.10
Veh For- Flx	984.40±117.52	911.60±89.09	26.40±4.78
For - Flx	1421.20±259.85	911.80±107.56	30.60±6.17

Se muestra la media ± EE. El resultado del ANOVA de una vía fue $p>0.05$.

AMB: ambulatoria; STE: estereotipias; REA: rearings.

VIII. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que sugiere que los estrógenos que son producidos a nivel extragonadal poseen un papel en la modulación de los efectos antidepresivos de fármacos como la FLX en hembras.

Los hallazgos del presente estudio sugieren la manera en cómo los fármacos antidepresivos SSRI ejercen su acción en mujeres con bajos niveles de hormonas gonadales, por ejemplo, mujeres postmenopáusicas cuya función ovárica está suprimida por el envejecimiento ovárico (Metcalf *et al.*, 1981). En este trabajo los sujetos utilizados (ratas hembra ovariectomizadas) tienen una condición endócrina similar a la de las mujeres postmenopáusicas ya que en ambos casos los niveles hormonales, principalmente estrógenos, son bajos: en el caso de las mujeres, los ovarios no producen hormonas como el 17β -estradiol, que es el estrógeno más potente y abundante, y el que participa de manera crítica en los ciclos menstruales (Mihm *et al.*, 2011); y en las ratas ovariectomizadas, al no haber ovarios, no hay producción hormonal (Zhang *et al.*, 2014). No se utilizaron ratas envejecidas porque las fases del ciclo estral en éstas son diferentes a los que posee una rata adulta joven; las ratas envejecidas tienen un ciclo estral más largo (>5 días), mientras que la rata va envejeciendo más, se observa que hay una irregularidad estral (se ven duplicadas ciertas fases), posteriormente tienen un estro constante que posteriormente da lugar a una fase de diestro permanente a la edad de 18 meses. Lo anterior no se observa en las mujeres menopáusicas, por lo que, utilizar un modelo de rata adulta joven ovariectomizada es más práctico y económico que utilizar ratas envejecidas. Además, aunque en este trabajo no se midieron los niveles periféricos de estradiol en hembras 3 spovx; Talboom y cols., demostraron en 2008 que los niveles periféricos de esta hormona son considerablemente más bajos (72% menos) en ratas hembra adultas jóvenes con 3 spovx en comparación con hembras intactas. Por lo que, los niveles de estrógenos observados en ratas 3 spovx no son suficientes para mantener la función reproductiva ni las mismas características de los tejidos que son dependientes de estrógenos.

Los resultados de este trabajo sugieren que, los estrógenos de origen extragonadal podrían estar involucrados en la respuesta antidepresiva observada en las ratas hembra 3 spovx.

8.1 Efecto del tratamiento con FLX 10 mg/kg en ratas 3 spovx.

En los resultados obtenidos del experimento 1, la PNF muestra un efecto tipo antidepresivo en las ratas tratadas con la FLX a una dosis de 10 mg/kg. Se ha reportado que FLX administrada en un rango de dosis menores a 10 mg/kg que incluyen 2.5 o 5 mg/kg en ratas 3 spovx, produce efecto tipo antidepresivo (Estrada-Camarena *et al.*, 2011). Hay otros estudios como el realizado por Estrada-Camarena y cols. en 2004 en el que se demuestra que ratas hembra 3 spovx a las que se les administra FLX 2.5 mg/kg no muestran un efecto tipo antidepresivo de la FLX. La falta de efecto tipo antidepresivo no se asocia con alteraciones locomotoras, ya que las mismas dosis no incrementan ni reducen la ambulaci3n general (Estrada-Camarena *et al.*, 2004). Tampoco existe una relaci3n entre la conducta de inmovilidad por dosis y el peso corporal, como lo evidencian los resultados actuales en los que no se muestran diferencias en el peso corporal en los animales tratados con las diferentes dosis de FLX. Los hallazgos en conjunto muestran que hay diferencias en cuanto a la dosis efectiva m3nima para observar un efecto tipo antidepresivo de FLX administrada en ratas 3 spovx. Lo anterior sugiere que existe un rango de dosis a las cuales las ratas responden que va desde los 2.5 mg/kg hasta 10 mg/kg. Dado que la cepa de animales es la misma, rata albina, Wistar, y que la edad es similar, probablemente las diferencias en la dosis umbral para producir efecto tipo antidepresivo con FLX se deba a las variabilidades intrapoblaci3n. Sin embargo, en este trabajo de tesis, adem3s, se encontr3 que FLX 10 mg/kg modifica el nado en comparaci3n con el grupo control, y no produjo efecto en la conducta de escalamiento, en concordancia con trabajos previos (Cryan *et al.*, 2005; Estrada-Camarena *et al.*, 2011).

El tratamiento subcr3nico con FLX logra producir un efecto tipo antidepresivo en ratas hembra ovariectomizadas a las que se les somete a la PNF ya que este esquema de tratamiento es capaz de aumentar la concentraci3n de la 5-HT en el espacio sin3ptico, debido a que se desensibilizan ciertos receptores como el 5-HT_{1A}, esto provoca una mayor liberaci3n de 5-HT (Richelson, 2001), al haber una mayor concentraci3n de 3sta en el espacio sin3ptico, la conducta de inmovilidad disminuye (Cryan *et al.*, 2005) observ3ndose el efecto tipo antidepresivo. Sabemos que la administraci3n de FLX (20 mg/kg) en animales que son evaluados en la PNF induce una fuerte activaci3n del metabolismo de glucosa en el cerebelo, adem3s de la corteza sensorial y somatosensorial, y el hipocampo, lo que produce incremento

de las conductas activas que generan una disminución de la conducta de inmovilidad. Es decir, el aumento en el tono serotoninérgico produce incremento en la atención, la memoria, la regulación del estrés y la coordinación motriz (Jang *et al.*, 2009). En este proceso también participan los estrógenos. Estas hormonas regulan a la baja la expresión y actividad del receptor 5HT_{1A}, aumentan la biosíntesis de 5-HT, regulan al alza la expresión y unión de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} y, disminuyen los niveles del mRNA que codifica al SERT, lo que provoca una reducción de la recaptura de serotonina (Krolick *et al.*, 2018).

8.2 Papel de los estrógenos en el efecto de FLX en ratas 3 spovx

Los estrógenos son hormonas capaces de facilitar el efecto tipo antidepresivo de los fármacos antidepresivos SSRI como FLX debido a que esta hormona modula a enzimas que participan en la síntesis de la 5-HT (Estrada-Camarena *et al.*, 2004). Se sabe que los estrógenos se unen a los RE, esto activa factores de transcripción de ciertas proteínas (MAO, THP) por medio de elementos de respuesta a estrógenos, dicha transcripción incrementa la síntesis y actividad de la enzima TPH, lo que incrementaría la síntesis de la 5-HT. La MAO-A degrada a la 5-HT en su metabolito inactivo en el ácido 5-hidroxi-indolacético (5HIAA, por sus siglas en inglés). Se sabe que los estrógenos reducen la actividad de la MAO. Los RE membranales desactivan a los receptores 5-TH_{1A} mediante el desacoplamiento de proteínas G; además, los estrógenos, a través de un mecanismo genómico incrementan el mRNA de 5-TH_{2A} (Hildebrandt *et al.*, 2010), que participan en las acciones de los antidepresivos.

Cabe destacar que, el efecto tipo antidepresivo de la FLX se mantiene aún en ratas 3 spovx, como lo demuestra la presente tesis y el estudio de Estrada-Camarena y cols. en 2008, en donde el efecto tipo antidepresivo se mantiene hasta las 12 spovx. En contraste, en ratas macho 3 semanas después de la castración el efecto tipo antidepresivo de la FLX, administrada en la misma forma que en el presente trabajo, se pierde. Incluso, dosis más altas (20 mg/kg) son inefectivas en los machos castrados, en los que hay una reducción significativa de los niveles de andrógenos y estrógenos derivados del testículo (Martínez-Mota *et al.*, 2008). Lo anterior nos indica que, a diferencia de los machos, las ratas hembra poseen factores que podrían contribuir a los efectos antidepresivos en condiciones de bajos niveles periféricos de hormonas sexuales. Una posibilidad es que los estrógenos de fuentes

extragonadales tengan un papel en el mantenimiento del efecto tipo antidepresivo de la FLX en las ratas ovariectomizadas.

Los resultados obtenidos en el experimento 2, apoyan esta idea ya que el tratamiento con un inhibidor de la aromatasa (formestano) bloqueó el efecto tipo antidepresivo de FLX 10 mg/kg, regresando los niveles de inmovilidad a los valores del grupo control. En un trabajo previo en ratas macho intactas, ocurre lo mismo que en las hembras ovariectomizadas del presente estudio, la administración de formestano (17.5 mg/kg) también bloquea el efecto de los antidepresivos (desipramina 5 mg/kg y FLX 10 mg/kg), sin modificar significativamente los niveles séricos de estradiol (Martínez-Mota *et al.*, 2008). En todos los casos posiblemente el antidepresivo pierda su efecto debido a que la concentración de estrógenos cerebrales disminuye significativamente gracias a que formestano inhibe la actividad de la aromatasa y en consecuencia no hay conversión de andrógenos a estrógenos, lo que ocasiona una carencia de estrógenos en blancos cerebrales que participan en el efecto tipo antidepresivo de FLX.

La aromatasa cerebral es responsable de la producción de estradiol en ciertas estructuras cerebrales que poseen las células encargadas de la producción de esta hormona, dichas estructuras están involucradas en la PNF y son blanco de FLX como estructuras del sistema límbico tales como el hipotálamo y la amígdala (Ishunina *et al.*, 2005; Sasano *et al.*, 1998).

Otras estructuras que también poseen estrógenos producidos por esta enzima son aquellas que poseen tanto aromatasa como RE, dichos RE se han encontrado mayormente en el tálamo, la amígdala, los núcleos del rafe y en el núcleo de la cama de la estría terminal; se ha observado una menor cantidad de RE en el hipocampo e hipotálamo (Cui *et al.*, 2013), en todas las regiones mencionadas, además de los RE también hay expresión de aromatasa principalmente en el tálamo, la corteza y el hipocampo (Cui *et al.*, 2013).

Existen evidencias que apoyan nuestros resultados conductuales. Por ejemplo, Kokras *et al.* en 2018 mostró que cuando a ratas hembra 3 spovx se les administra letrozol, la actividad de la aromatasa en el hipotálamo es menor en comparación con hembras ovariectomizadas a

las que no se les administró el fármaco, lo mismo sucede con machos (Kokras *et al.*, 2018). Cabe mencionar que, la actividad de la aromatasa en el hipotálamo de hembras ovariectomizadas es menor en comparación con machos castrados (Kokras *et al.*, 2018). Dalla y cols. demostraron en 2015 que, ratas 3 spovx a las que se les administró letrozol carecían de actividad de aromatasa, ya que la actividad de esta enzima no pudo ser detectada en el hipocampo ni en la corteza prefrontal en comparación con los animales que no recibieron letrozol. Este fármaco, en la PNF, aumentó la inmovilidad en ratas 3 spovx. Aunque en el presente estudio no cuantificamos la actividad de la aromatasa, un reporte de la literatura mostró que formestano a una dosis de 17.5 mg/kg disminuye drásticamente la concentración de la aromatasa cerebral en ratas macho intactas, principalmente en la amígdala y otras estructuras del sistema límbico (Yuan *et al.*, 1995).

La baja concentración de estrógenos se ha asociado con mayor conducta depresiva en hembras de roedores (Estrada-Camarena *et al.*, 2011; Vega-Rivera *et al.*, 2021); mientras pasa el tpovx, esta conducta se ve disminuida a las 3 spovx y se mantiene sin diferencias hasta las 12 spovx (Estrada-Camarena *et al.*, 2011) e incluso hasta las 24 spovx (Hernández-Hernández *et al.*, 2022). Las ratas ovariectomizadas poseen niveles de estrógenos significativamente menores que aquellas no ovariectomizadas (Sample *et al.*, 2012 y Talboom *et al.*, 2008), por lo tanto, presentan mayores niveles de inmovilidad en la PNF. Aunque en los estudios descritos anteriormente no se mide la concentración de estrógenos en el cerebro, se ha observado que cuando se administra tamoxifeno, un modulador de los RE, con acción antagonista (a la dosis utilizada), a ratas hembra 3 spovx, se atenúa el efecto antidepresivo de estradiol, lo anterior confirma el papel que tienen los RE cerebrales en la conducta antidepresiva (Lemini *et al.*, 2013).

En el presente estudio, el tratamiento con formestano a ratas hembra ovariectomizadas (Grupo 2: formestano (17.5 mg/kg) + vehículo de fluoxetina (solución salina 0.9%)); no produjo un aumento de la conducta de inmovilidad que pudiera sugerir un estado depresivo. Este hallazgo contrasta con el resultado de Kokras *et al.* (2018) quienes reportaron que la inmovilidad aumenta en ratas 3 spovx después del tratamiento con letrozol en comparación con ratas intactas que también recibieron el fármaco (Kokras *et al.*, 2018). Esta diferencia podría deberse a que, en el estudio de Kokras, se comparó la inmovilidad de ratas ovariectomizadas e intactas, que recibieron letrozol y; en nuestro estudio se compararon

hembras ovariectomizadas que recibieron o no formestano. Por otro lado, no podemos descartar el tipo de fármaco utilizado, a pesar de que tanto letrozol como formestano son inhibidores de la aromatasas tienen una característica que los hace diferentes: letrozol es un inhibidor de tipo 2, es decir, se une de manera reversible a la enzima; en cambio, formestano al ser un inhibidor de tipo 1, su unión es irreversible. Nuestros datos sugieren que la falta de estrógenos, posiblemente en sitios cerebrales, no es suficiente para generar mayor conducta de inmovilidad en las hembras ovariectomizadas, pero sí revelan que los estrógenos de origen no gonadal son indispensables para que FLX produzca sus efectos en los blancos cerebrales.

Los hallazgos de la prueba de actividad locomotora sugieren que los efectos de FLX y de formestano son específicos para la conducta depresiva en la PNF. Esto se deduce porque no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la actividad locomotora entre los cuatro grupos experimentales, por lo que los efectos observados anteriormente en la PNF del experimento dos, se deben a los fármacos administrados y no a un aumento o disminución de la actividad locomotora. Estos hallazgos coinciden con lo que se ha reportado en la literatura, aunque los estudios se enfocan en inhibidores de la aromatasas tipo 2 como letrozol (Kokras *et al.*, 2018 y Borbélyová *et al.*, 2017).

8.3 El tratamiento con formestano no modifica el IU-S en ratas 3 spovx

Respecto al IU-S de todos los grupos experimentales, durante el desarrollo del trabajo tuvimos fallas en la disección en algunos animales, lo que afectó la integridad del tejido uterino, particularmente en aquellos del grupo al que se le administró For + FLX. Sin embargo, la prueba estadística realizada al IU-S de los 3 grupos restantes nos indica que el tratamiento con formestano (grupo For-Veh Flx) no modificó el IU-S de manera significativa respecto a las ratas ovariectomizadas del grupo Veh For-Veh Flx. Aún con la falta del grupo experimental, los hallazgos obtenidos con los otros tres grupos nos hacen pensar que la combinación de tratamientos tampoco modificaría el IU-S en las hembras ovariectomizadas. Aunque con diferencias inherentes al sexo de los animales, los estudios de nuestro laboratorio usando machos, han mostrado que el tratamiento de formestano en el esquema utilizado en la presente tesis, no reduce de forma significativa los niveles periféricos de estradiol. Por lo que, es posible que esto tenga una influencia en el mantenimiento del peso uterino que presentan las hembras con formestano.

IX. CONCLUSIÓN

Los resultados del presente estudio apoyan la hipótesis de que los estrógenos tienen un papel en las acciones de FLX. Se cumplió con el objetivo, formestano suprimió el efecto tipo antidepresivo de FLX a la dosis de 10 mg/kg.

- Los resultados confirman que el tratamiento con FLX (10 mg/kg) es efectivo para reducir la conducta depresiva en las hembras ovariectomizadas.
- Los resultados sugieren que los estrógenos de fuentes extragonadales, posiblemente los sintetizados de novo en el tejido cerebral, participan en el efecto tipo antidepresivo de FLX en hembras ovariectomizadas.
- Los hallazgos en la prueba de actividad locomotora sugieren que los efectos de FLX y formestano son específicos para la conducta depresiva en la PNF.
- El tratamiento con formestano no afectó el peso uterino de los animales revelando pocos efectos periféricos de la inhibición de la aromatasa en este tejido blanco.

X. LIMITACIONES

El presente estudio no incluyó hembras gonadalmente intactas dado que el objetivo se planteó a partir de la respuesta de antidepresivos en las hembras en un modelo de menopausia por ovariectomía. A este objetivo se le sumó el hecho de que la inclusión de hembras gonadalmente intactas implicaría hacer un control del ciclo estral mediante la toma y análisis de frotis vaginales. Esto incrementaría el número de animales, la cantidad de fármacos, y la extensión del diseño experimental considerando al menos dos fases del ciclo estral. Algunos de estos experimentos se realizaron durante la pandemia lo que delimitó los alcances del estudio. Sin embargo, consideramos que tiene mucho sentido incluir de forma prospectiva, algunos grupos de hembras intactas. Además, la experiencia en el laboratorio indica que la tasa de respuesta a antidepresivos en hembras ovariectomizadas es mejor debido a que hormonalmente poseen homogeneidad.

Otra limitación es que no se midió la concentración de estradiol en sangre, lo cual, nos indicaría si el formestano fue capaz (o no) de inhibir la actividad de aromatasa en tejidos periféricos. Tampoco se utilizó una dosis de 20 mg/kg de FLX en las hembras, estudios en machos demuestran que esta dosis produce un efecto de tipo antidepresivo (Detke *et al.*, 1995); sin embargo, está por arriba de la dosis efectiva en las hembras.

XI. PERSPECTIVAS

Se extrajeron y almacenaron los cerebros de cada una de las ratas utilizadas en este trabajo, lo que nos permitiría medir en estas ratas la concentración y/o actividad de aromatasa en el cerebro, particularmente en estructuras clave como el área preóptica, hipotálamo o amígdala (Roselli *et al.*, 1985), así como la concentración de estradiol.

Las hembras ovariectomizadas han demostrado responder a FLX hasta 12 spovx (Estrada-Camarena *et al.*, 2011); se tiene contemplado realizar estos mismos experimentos en ratas con 12 spovx para ver si la dosis de formestano usada en este estudio (17.5 mg/kg) también es capaz de bloquear el efecto tipo antidepresivo de FLX a dicho tpovx.

XII. REFERENCIAS

1. Aggarwal S y Mortensen O. (2017). Overview of monoamine transporters. *Current protocols in pharmacology*, 79: 12.16.1-12.16.17
<https://doi.org/10.1002/cpph.32>
2. Alvano S y Zieher L. (2020). An updated classification of antidepressants: a proposal to simplify treatment. *Personalized medicine in Psychiatry* 19-20
<https://doi.org/10.1016/j.pmip.2019.04.002>
3. American Psychiatric Association. (2013). *DSM-5 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. fifth edition. United States. 947 pp.
4. Anuario de Morbilidad 1984-2019: Casos de enfermedad por grupo de edad. Gobierno de México. Recuperado en agosto de 2020 de:
https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/incidencia_casos.html
5. Artigas F. (2013). Serotonin receptors involved in antidepressant effects. *Pharmacology & therapeutics*, 137(1):119–131.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.09.006>
6. Attali G, Weizman A, Gil-Ad I y Rehavi M. (1997). Opposite modulatory effects of ovarian hormones on rat brain dopamine and serotonin transporters. *Brain research*, 756(1-2): 153–159
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)00136-4](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)00136-4)
7. Azcoitia I, Yague J y Garcia-Segura L. (2011). Estradiol synthesis within the human brain. *Neuroscience*, 191: 139–147.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.02.012>
8. Baca E, Garcia-Garcia M y Porrás-Chavarino A. (2004). Gender differences in treatment response to sertraline versus imipramine in patients with nonmelancholic depressive disorders. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 28(1):57–65. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(03\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(03)00177-5)
9. Bano S, Akhter S y Afridi M. (2004). Gender based response to fluoxetine hydrochloride medication in endogenous depression. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan: JCPSP*, 14(3): 161–165.
10. Baulieu E. (1998). Neurosteroids: a novel function of the brain. *Psychoneuroendocrinology*, 23(8): 963–987.

- [https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(98\)00071-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(98)00071-7)
11. Berlanga C y Flores-Ramos M. (2006). Different gender response to serotonergic and noradrenergic antidepressants. A comparative study of the efficacy of citalopram and reboxetine. *Journal of affective disorders*, 95(1-3):119–123.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2006.04.029>
 12. Bialy M y Sachs B. (2002). Androgen implants in medial amygdala briefly maintain noncontact erection in castrated male rats. *Hormones and behavior*, 42(3): 345–355.
<https://doi.org/10.1006/hbeh.2002.1821>
 13. Bigos K, Pollock B, Stankevich B y Bies R. (2009). Sex differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of antidepressants: an updated review. *Gender medicine*. 6(4): 522–543
<https://doi.org/10.1016/j.genm.2009.12.004>
 14. Boadle-Biber M. (1993). Regulation of serotonin synthesis. *Progress in Biophysics molecular Biology*. 60: 1-15
 15. Boku S, Nakagawa S, Toda H e Hishimoto A. (2018). Neural basis of major depressive disorder: beyond monoamine hypothesis. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 72: 3-12
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/pcn.12604>
 16. Borbélyová V, Domonkos E, Csongová M, Kačmárová M, Ostatníková D, Celec P y Hodosy J. (2017). Sex-dependent effects of letrozole on anxiety in middle-aged rats. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 44 Suppl 1:93–98.
<https://doi.org/10.1111/1440-1681.12731>
 17. Brocca M y Garcia-Segura L. (2019). Non-reproductive Functions of Aromatase in the Central Nervous System Under Physiological and Pathological Conditions. *Cellular and molecular neurobiology*, 39(4): 473–481.
<https://doi.org/10.1007/s10571-018-0607-4>
 18. Brodie A y Njar V. (2000). Aromatase inhibitors and their application in breast cancer treatment*. *Steroids*, 65(4): 171–179. [https://doi.org/10.1016/s0039-128x\(99\)00104-x](https://doi.org/10.1016/s0039-128x(99)00104-x)
 19. Callard G, Petro Z y Ryan K. (1977). Identification of aromatase in the reptilian brain. *Endocrinology*, 100(4):1214–1218. <https://doi.org/10.1210/endo-100-4-1214>

20. Carlini P, Frassoldati A, De Marco S, Casali A, Ruggeri E, Nardi M, Papaldo P, Fabi A, Paoloni F y Cognetti F. (2001). Formestane, a steroidal aromatase inhibitor after failure of non-steroidal aromatase inhibitors (anastrozole and letrozole): is a clinical benefit still achievable?. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*, 12(11): 1539–1543. <https://doi.org/10.1023/a:1013180214359>
21. Chan H, Petrossian K y Chen S. (2016). Structural and functional characterization of aromatase, estrogen receptor, and their genes in endocrine-responsive and -resistant breast cancer cells. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 161:73–83. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.07.018>
22. Consoli D, Fedotova J, Micale V, Sapronov N y Drago F. (2005). Stressors affect the response of male and female rats to clomipramine in a model of behavioral despair (forced swim test). *European journal of pharmacology*, 520(1-3):100–107. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.08.012>
23. Contreras C, Molina M, Saavedra M y Martínez-Mota L. (2000). Lateral septal neuronal firing rate increases during proestrus-estrus in the rat. *Physiology & behavior*, 68(3):279–284. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(99\)00169-9](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(99)00169-9)
24. Cui J, Shen Y y Li R. (2013). Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends in molecular medicine*, 19(3): 197–209. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.007>
25. Cryan J, Valentino R y Lucki I. (2005). Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 29(4-5): 547–569. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.008>
26. Dalla C, Pastromas N y Kokras N. (2015). P.2.a.004 Sustained aromatase inhibition: brain effects in both sexes. *European Neuropsychopharmacology*, 25(2): S376-S377. [https://doi.org/10.1016/S0924-977X\(15\)30488-0](https://doi.org/10.1016/S0924-977X(15)30488-0).
27. Dalla C, Pitychoutis P, Kokras N y Papadopoulou-Daifoti Z. (2010). Sex differences in animal models of depression and antidepressant response. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 106(3): 226–233. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2009.00516.x>

28. Detke M, Rickels M y Lucki I. (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 121(1)66–72.
<https://doi.org/10.1007/BF02245592>
29. Diotel N, Le Page Y, Mouriec K, Tong S, Pellegrini E, Vaillant C, Anglade I, Brion F, Pakdel F, Chung B y Kah O. (2010). Aromatase in the brain of teleost fish: expression, regulation and putative functions. *Frontiers in neuroendocrinology*, 31(2): 172–192. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.01.003>
30. Donner N y Lowry C. (2013). Sex differences in anxiety and emotional behavior. *Pflugers Archiv: European journal of physiology*, 465(5): 601–626.
<https://doi.org/10.1007/s00424-013-1271-7>
31. Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A y López-Rubalcava C. (2004). Interaction between estrogens and antidepressants in the forced swimming test in rats. *Psychopharmacology*, 173(1-2):139–145.
<https://doi.org/10.1007/s00213-003-1707-4>
32. Estrada-Camarena E, López-Rubalcava C, Hernández-Aragón A, Mejía-Mauries S y Picazo O. (2011). Long-term ovariectomy modulates the antidepressant-like action of estrogens, but not of antidepressants. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 25(10):1365–1377. <https://doi.org/10.1177/0269881111408456>
33. Estrada-Camarena E, López-Rubalcava C, Vega-Rivera N, Récamier-Carballo S y Fernández-Guasti A. (2010). Antidepressant effects of estrogens: a basic approximation. *Behavioural pharmacology*, 21(5-6):451–464.
<https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e32833db7e9>
34. Faravelli C, Scarpato M, Castellini G, y Sauro, C. (2013). Gender differences in depression and anxiety: the role of age. *Psychiatry research*, 210(3):1301–1303.
<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.09.027>
35. Ferguson J y Hill H. (2006). Pharmacokinetics of fluoxetine in elderly men and women. *Gerontology*, 52(1): 45–50. <https://doi.org/10.1159/000089825>
36. Fester L, Brandt N, Windhorst S, Pröls F, Bläute C y Rune G. (2016). Control of aromatase in hippocampal neurons. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 160: 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.10.009>

37. Flores-Ramos M y Martínez-Mota L. (2012). Perimenopausia y trastornos afectivos: aspectos básicos y clínicos. México D.F. Salud Mental. Vol. 35 no.3, 231-240
38. Frank E y Schneider G. (2013). Synthesis of sex hormone-derived modified steroids possessing antiproliferative activity. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 137: 301–315. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.02.018>
39. Fuentes N y Silveyra P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. Advances in protein chemistry and structural biology, 116:135–170. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>
40. Ghosh D, Griswold J, Erman M y Pangborn W. (2009). Structural basis for androgen specificity and oestrogen synthesis in human aromatase. Nature 457(7226):219–223. <https://doi.org/10.1038/nature07614>
41. Global Burden of Disease. Disease and injury incidence and prevalence collaborators. (2018). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Global health metrics. 392: 1789–858 <https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736%2818%2932279-7>
42. Guo L, Chen Y, Hu Y, Wu X, He Y, Wu J, Huang M, Mason M y Bao A. (2018). Sex hormones affect acute and chronic stress responses in sexually dimorphic patterns: Consequences for depression models. Psychoneuroendocrinology, 95: 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.05.016>
43. Haase J y Brown E. (2015). Integrating the monoamine, neurotrophin and cytokine hypotheses of depression: a central role for the serotonin transporter?, Pharmacology and therapeutics 147:1-11
44. Harada N. (2015). Structure, regulation and polymorphisms of the aromatase gene. En A. Larionov (Ed.), Resistance to aromatase inhibitors in breast cancer, Resistance to targeted anti-cancer therapeutics 8 (pp. 13-31). Springer International Publishing Switzerland.
45. Hasegawa H y Nakamura K. (2010). Chapter 2.3 Tryptophan hydroxylase and serotonin synthesis regulation. En handbook of behavioral neuroscience. vol. 21: 183-202

46. Hammen C. (2018). Risk factors for depression: An autobiographical review. *Annual review of clinical psychology*, 14:1–28
<https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-050817-084811>
47. Hernández-Hernández O, Herrera-Pérez J, Chavira R, Lemini C y Martínez-Mota L. (2022). Effects of post-ovariectomy time frame and age on the antidepressant-like actions of estradiol and prolame in female rats. *Hormones and behavior*, 141, 105154. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2022.105154>
48. Hildebrandt T, Alfano L, Tricamo M y Pfaff D. (2010). Conceptualizing the role of estrogens and serotonin in the development and maintenance of bulimia nervosa. *Clinical psychology review*, 30(6):655–668.
<https://doi.org/10.1016/j.cpr.2010.04.011>
49. Hill R, Chua H, Jones M, Simpson E y Boon W. (2009). Estrogen deficiency results in apoptosis in the frontal cortex of adult female aromatase knockout mice. *Molecular and cellular neurosciences*, 41(1):1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.12.009>
50. Hogervorst E, De Jager C, Budge M y Smith A. (2004). Serum levels of estradiol and testosterone and performance in different cognitive domains in healthy elderly men and women. *Psychoneuroendocrinology*, 29(3):405–421.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(03\)00053-2](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(03)00053-2)
51. Hojo Y, Higo S, Ishii H, Ooishi Y, Mukai H, Murakami G, Kominami T, Kimoto T, Honma S, Poirier D y Kawato S. (2009). Comparison between hippocampus-synthesized and circulation-derived sex steroids in the hippocampus. *Endocrinology*, 150(11):5106–5112.
<https://doi.org/10.1210/en.2009-0305>
52. Howard P, Twycross R, Shuster J, Mihalyo M y Wilcock A. (2012). Antidepressant drugs. *Journal of pain and symptom management* 44(5):763–783.
<https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2012.09.001>
53. Ibrahim W, Safar M, Khattab M y Agha A. (2016). 17 β -Estradiol augments antidepressant efficacy of escitalopram in ovariectomized rats: Neuroprotective and serotonin reuptake transporter modulatory effects. *Psychoneuroendocrinology*, 74: 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.09.013>

54. Ishunina T, van Beurden D, van der Meulen G, Unmehopa U, Hol E, Huitinga I y Swaab D. (2005). Diminished aromatase immunoreactivity in the hypothalamus, but not in the basal forebrain nuclei in Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 26(2):173–194. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2004.03.010>
55. Jaggar M, Fanibunda S, Gosh S, Duman R y Vaidya V. (2019). Chapter 6. The neurotrophic hypothesis of depression revisited: new insights and therapeutic implications. En *Neurobiology of Depression*. (pp 43-62). Academic Press
56. Jakab R, Horvath T, Leranath C, Harada N y Naftolin F. (1993). Aromatase immunoreactivity in the rat brain: gonadectomy-sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive "limbic ring" of the lateral septum-bed nucleus-amygdala complex. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 44(4-6): 481–498. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(93\)90253-s](https://doi.org/10.1016/0960-0760(93)90253-s)
57. Jang D, Lee S, Park C, Lee S, Kim Y y Cho Z. (2009). Effects of fluoxetine on the rat brain in the forced swimming test: a [F-18]FDG micro-PET imaging study. *Neuroscience letters*, 451(1):60–64.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.12.024>
58. Karaismailoğlu, S., & Erdem, A. (2013). The effects of prenatal sex steroid hormones on sexual differentiation of the brain. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, 14(3): 163–167.
<https://doi.org/10.5152/jtgga.2013.86836>
59. Kroeze Y, Zhou H y Homberg J. (2012). The genetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacology and therapeutics*, 136 (3): 375-400.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.08.015>
60. Krolick K, Zhu Q y Shi H. (2018). Effects of Estrogens on Central Nervous System Neurotransmission: Implications for Sex Differences in Mental Disorders. *Progress in molecular biology and translational science*, 160, 105–171.
<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2018.07.008>
61. Kokras N, Pastromas N, Papisava D, de Bournonville C, Cornil C y Dalla C. (2018). Sex differences in behavioral and neurochemical effects of gonadectomy and aromatase inhibition in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 87:93–107.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.10.007>

62. Kornstein S, Schatzberg A, Thase M, Yonkers K, McCullough J, Keitner G, Gelenberg A, Davis S, Harrison W y Keller M. (2000). Gender differences in treatment response to sertraline versus imipramine in chronic depression. *The American journal of psychiatry*, 157(9):1445–1452.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.9.1445>
63. LeGates T, Kvarita M y Thompson S. (2019). Sex differences in antidepressant efficacy. *Neuropsychopharmacology*. 44(1): 140-154.
<https://doi.org/10.1038/s41386-018-0156-z>
64. Lemini C, Cruz-López B y Martínez-Mota L. (2013). Participation of estrogen receptors in the antidepressant-like effect of prolame on the forced swimming test. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 103(3):659–665.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.11.004>
65. Luchetti S, Bossers K, Van de Bilt S, Agrapart V, Morales R, Frajese G y Swaab D. (2011). Neurosteroid biosynthetic pathways changes in prefrontal cortex in Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 32(11):1964–1976.
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.12.014>
66. MacLusky N, Naftolin F y Goldman-Rakic P. (1986). Estrogen formation and binding in the cerebral cortex of the developing rhesus monkey. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(2):513–516.
<https://doi.org/10.1073/pnas.83.2.513>
67. Mahmoud R, Wainwright S, Chaiton J, Lieblich S y Galea L. (2016). Ovarian hormones, but not fluoxetine, impart resilience within a chronic unpredictable stress model in middle-aged female rats. *Neuropharmacology*, 107:278–293.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.01.033>
68. Martínez-Mota L, Cruz-Martínez J, Márquez-Baltazar S y Fernández-Guasti, A. (2008). Estrogens participate in the antidepressant-like effect of desipramine and fluoxetine in male rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 88(3): 332–340.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.09.003>
69. McArthur R y Borsini F. (2006). Animal models of depression in drug discovery: a historical perspective. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 84(3): 436–452.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.06.005>

70. McEwen B y Milner T. (2017). Understanding the broad influence of sex hormones and sex differences in the brain. *Journal of neuroscience research*, 95(1-2): 24–39. <https://doi.org/10.1002/jnr.23809>
71. Medina-Mora ME, Borges G, Lara C, Benjet C y Blanco J. (2005). Prevalence, service use, and demographic correlates of 12-month DSM-IV psychiatric disorders in Mexico: results from the Mexican National Comorbidity Survey. *Psychol.* 35(12):1773-1783
72. Mellon S, Griffin L y Compagnone N. (2001). Biosynthesis and action of neurosteroids. *Brain research. Brain research reviews*, 37(1-3): 3–12. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(01\)00109-6](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(01)00109-6)
73. Metcalf M, Donald R y Livesey J. (1981). Pituitary-ovarian function in normal women during the menopausal transition. *Clinical endocrinology*, 14(3): 245–255. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1981.tb00193.x>
74. Mihm M, Gangooly S y Muttukrishna S. (2011). The normal menstrual cycle in women. *Animal reproduction science*, 124(3-4): 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.030>
75. Mirza N, Nielsen E y Troelsen K. (2007). Serotonin transporter density and anxiolytic-like effects of antidepressants in mice. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*. vol.31 no.4, 858-866
76. Murphy D, Andrews A, Wichems C, Li Q, Tohda M y Greenberg B. (1998). Brain serotonin neurotransmission: an overview and update with an emphasis on serotonin subsystem heterogeneity, multiple receptors, interactions with other neurotransmitter systems, and consequent implications for understanding the actions of serotonergic drugs. *The Journal of clinical psychiatry*, 59 Suppl 15: 4–12.
77. Naftolin F, Ryan K y Petro Z. (1971). Aromatization of androstenedione by the diencephalon. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 33(2):368–370. <https://doi.org/10.1210/jcem-33-2-368>
78. Nelson L y Bulun S. (2001). Estrogen production and action. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 45(3 Suppl): S116–S124. <https://doi.org/10.1067/mjd.2001.117432>

79. Olivier J, Van Der Hart M, Van Swelm R, Dederen P, Homberg J, Cremers T, Deen P, Cuppen E, Cools A y Ellenbroek B. (2008). A study in male and female 5-HT transporter knockout rats: an animal model for anxiety and depression disorders. *Neuroscience*, 152(3):573–584.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.12.032>
80. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2020. Depresión. Recuperado de: who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/depression
81. Pae C, Mandelli L, Kim T, Han C, Masand P, Marks D, Patkar A, Steffens D, De Ronchi D y Serretti A. (2009). Effectiveness of antidepressant treatments in premenopausal versus post-menopausal women: a pilot study on differential effects of sex hormones on antidepressant effects. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 63(3):228–235.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2008.03.010>
82. Pryor J y Sulser F. (1991). Chapter 3. Evolution of the monoamine hypothesis of depression. En *Biological aspects of affective disorders*. (pp 77-94). Academic Press.
83. Ramamoorthy S, Shippenberg T y Jayanthi L. (2011). Regulation of monoamine transporters: Role of transporter phosphorylation. *Pharmacology & therapeutics*, 129(2): 220–238. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.09.009>
84. Récamier-Carballo S, Estrada-Camarena E, Reyes R y Fernández-Guasti A. (2012). Synergistic effect of estradiol and fluoxetine in young adult and middle-aged female rats in two models of experimental depression. *Behavioural brain research*, 233(2):351–358. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.05.034>
85. Reisinger S, Wanek T, Langer O y Pollak D. (2019). PET imaging of the mouse brain reveals a dynamic regulation of SERT density in a chronic stress model. *Translational psychiatry*. 9(1):80 <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0416-7>
86. Richelson E. (2001). Pharmacology of antidepressants. *Mayo Clinic proceedings*, 76(5): 511–527. <https://doi.org/10.4065/76.5.511>
87. Roselli C, Abdelgadir S, Rønnekleiv O y Klosterman S. (1998). Anatomic distribution and regulation of aromatase gene expression in the rat brain. *Biology of reproduction*, 58(1):79–87. <https://doi.org/10.1095/biolreprod58.1.79>

88. Roselli C, Horton L y Resko J. (1985). Distribution and regulation of aromatase activity in the rat hypothalamus and limbic system. *Endocrinology*, 117(6): 2471–2477. <https://doi.org/10.1210/endo-117-6-2471>
89. Roselli C, Liu M y Hurn P. (2009). Brain aromatization: classic roles and new perspectives. *Seminars in reproductive medicine*, 27(3):207–217. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1216274>
90. Rudnick G. (2006). Serotonin transporters--structure and function. *The Journal of membrane biology*, 213(2): 101–110. <https://doi.org/10.1007/s00232-006-0878-4>
91. Salk R, Hyde J y Abramson L. (2017). Gender differences in depression in representative national samples: Meta-analyses of diagnoses and symptoms. *Psychological bulletin*, 143(8):783–822. <https://doi.org/10.1037/bul0000102>
92. Sample S, Racette M, Hao Z, Thomas C, Behan M y Muir P. (2012). Functional adaptation in female rats: the role of estrogen signaling. *PloS one*, 7(9):e43215. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043215>
93. Sasano H, Takashashi K, Satoh F, Nagura H y Harada N. (1998). Aromatase in the human central nervous system. *Clinical endocrinology*, 48(3):325–329. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.1998.00390.x>
94. Schneider L, Small G, Hamilton S, Bystritsky A., Nemeroff C y Meyers B. (1997). Estrogen replacement and response to fluoxetine in a multicenter geriatric depression trial. Fluoxetine Collaborative Study Group. *The American journal of geriatric psychiatry: official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry*, 5(2):97–106.
95. Selmanoff M, Brodtkin L, Weiner R y Siiteri P. (1977). Aromatization and 5 α -reduction of androgens in discrete hypothalamic and limbic regions of the male and female rat. *Endocrinology*, 101(3):841–848. <https://doi.org/10.1210/endo-101-3-841>
96. Shay D, Vieira-Potter V y Rosenfeld, C. (2018). Sexually Dimorphic Effects of Aromatase on Neurobehavioral Responses. *Frontiers in molecular neuroscience*. 11, 374. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00374>

97. Song J y Kim Y. (2021). Animal models for the study of depressive disorder. *CNS neuroscience & therapeutics*, 27(6): 633–642. <https://doi.org/10.1111/cns.13622>
98. Sramek J, Murphy M, y Cutler N. (2016). Sex differences in the psychopharmacological treatment of depression. *Dialogues in clinical neuroscience*, 18(4): 447–457. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2016.18.4/ncutler>
99. Stahl S. (1998). Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *Journal of affective disorders*. 51(3): 215–235. [https://doi.org/10.1016/s0165-0327\(98\)00221-3](https://doi.org/10.1016/s0165-0327(98)00221-3)
100. Staley J, Sanacora G, Tamagnan G, Maciejewski P, Malison R, Berman R, Vythilingam M, Kugaya A, Baldwin R, Seibyl J, Charney D e Innis R. (2006). Sex differences in diencephalon serotonin transporter availability in major depression. *Biological psychiatry*, 59(1):40–47. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.06.012>
101. Stanisić V, Lonard D y O'Malley B. (2010). Modulation of steroid hormone receptor activity. *Progress in brain research*, 181: 153–176. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)81009-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)81009-6)
102. Steimer T y Hutchison J. (1980). Aromatization of testosterone within a discrete hypothalamic area associated with the behavioral action of androgen in the male dove. *Brain research*, 192(2): 586–591. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)90912-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)90912-9)
103. Stocco C. (2008). Aromatase expression in the ovary: hormonal and molecular regulation. *Steroids*, 73(5):473–487. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2008.01.017>
104. Strauss J y FitzGerald G. (2019). Chapter 4 - Steroid Hormones and Other Lipid Molecules Involved in Human Reproduction. En Strauss y Barbieri (Eds.), *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology (Eighth Edition)*, (pp. 75-114). Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323479127000044>
105. Tabatadze N, Sato S y Woolley C. (2014). Quantitative analysis of long-form aromatase mRNA in the male and female rat brain. *PloS one*, 9(7):e100628. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100628>

106. Talboom J, Williams B, Baxley E, West S y Bimonte-Nelson H. (2008). Higher levels of estradiol replacement correlate with better spatial memory in surgically menopausal young and middle-aged rats. *Neurobiology of learning and memory*, 90(1):155–163. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.04.002>
107. Tong S, Chiang E, Hsiao P y Chung B. (2001). Phylogeny, expression and enzyme activity of zebrafish cyp19 (P450 aromatase) genes. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 79(1-5): 299–303. [https://doi.org/10.1016/s0960-0760\(01\)00146-7](https://doi.org/10.1016/s0960-0760(01)00146-7)
108. Ulubaev A, Lee D, Purandare N, Pendleton N y Wu F. (2009). Activational effects of sex hormones on cognition in men. *Clinical endocrinology*, 71(5):607–623. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2009.03562.x>
109. Vega-Rivera N, González-Monroy E, Morelos-Santana E y Estrada-Camarena E. (2021). The relevance of the endocrine condition in microglia morphology and dendrite complexity of doublecortin-associated neurons in young adult and middle-aged female rats exposed to acute stress. *The European journal of neuroscience*, 54(4):5293–5309. <https://doi.org/10.1111/ejn.15398>
110. Veyrac A y Bakker J. (2011). Postnatal and adult exposure to estradiol differentially influences adult neurogenesis in the main and accessory olfactory bulb of female mice. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 25(3):1048–1057. <https://doi.org/10.1096/fj.10-172635>
111. Wagner F, González-Forteza C, Sanchez-Garcia S, García-Peña C y Gallo J. (2012). Enfocando la depresión como problema de salud pública en México. *México. Ment* vol.35 no.1
112. Wiseman L y McTavish D. (1993). Formestane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in the management of breast cancer and prostatic cancer. *Drugs*. 45(1):66–84. <https://doi.org/10.2165/00003495-199345010-00007>
113. Wozniak A, Hutchison R, Morris C y Hutchison J. (1998). Neuroblastoma and Alzheimer's disease brain cells contain aromatase activity. *Steroids*. 63(5-6):263–267. [https://doi.org/10.1016/s0039-128x\(98\)00029-4](https://doi.org/10.1016/s0039-128x(98)00029-4)

114. Yague J, Azcoitia I, DeFelipe J, Garcia-Segura L y Muñoz A. (2010). Aromatase expression in the normal and epileptic human hippocampus. *Brain research*, 1315: 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.09.111>
115. Yague J, Muñoz A, de Monasterio-Schrader P, Defelipe J, Garcia-Segura L y Azcoitia I. (2006). Aromatase expression in the human temporal cortex. *Neuroscience*, 138(2):389–401. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.11.054>
116. Yague J, Wang A, Janssen W, Hof P, Garcia-Segura L, Azcoitia I y Morrison J. (2008). Aromatase distribution in the monkey temporal neocortex and hippocampus. *Brain research*, 1209:115–127. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.02.061>
117. Zandio M, Ferrín M y Cuesta M. (2012). Neurobiología de la depresión. *Anales Sis San Navarra*. vol.25 no.3
118. Zhang Y, Yu L, Jin W y Ao M. (2014). Effect of ethanolic extract of *Lepidium meyenii* Walp on serum hormone levels in ovariectomized rats. *Indian journal of pharmacology*, 46(4): 416–419. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.135955>
119. Zhou L, Fester L, von Blittersdorff B, Hassu B, Nogens H, Prange-Kiel J, Jarry H, Wegscheider K y Rune G. (2010). Aromatase inhibitors induce spine synapse loss in the hippocampus of ovariectomized mice. *Endocrinology*, 151(3):1153–1160. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0254>