



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



Evaluación del efecto antidepresivo de
la nicotina sobre ratas hembra en
diferentes fases del ciclo estral

T E S I S

Para obtener el título de licenciatura:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

BIÓLOGO

PRESENTA:

LYNDA LIZBETH TORRES ROJAS

DIRECTOR: DR. EMILIO DOMÍNGUEZ SALAZAR

ASESOR: DR. JOSÉ ÁNGEL ROJAS ZAMORANO

SINODALES: M. EN C. ROSA ELBA GALVÁN DUARTE

Q.F.B. CARINA GUTIÉRREZ IGLESIAS

Q.F.B. ENRIQUE ESCALERA ZUÑIGA



CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO 2017



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.

Agradecimientos

Agradezco a la FES Zaragoza UNAM, ya que gracias a ella fue posible mi formación profesional, pero sobre todo gracias a la UAM Iztapalapa, esta institución me dio la oportunidad de tener un acercamiento a la investigación científica, y en ella realice los proyectos de mi servicio social y de la tesis.

Llegué al laboratorio de neuroendocrinología en el área de neurociencias gracias a la oportunidad que me brindaron los Doctores Emilio y José Ángel, siempre estaré agradecida por su buen recibimiento y consideración para asistir a congresos, coloquios, seminarios, reuniones académicas y sociales, a pesar de mi asistencia solo durante los vacacionales de 2012 a 2015, fue una excelente forma de aprovecharlas.

Así como también agradezco al resto de mi comité de sinodales. Gracias a los Q.F.B Carina y Enrique, con quienes tuve la dicha de tenerlos como profesores en un par de ocasiones, es muy grato contar nuevamente con su apoyo, en esta etapa final.

Agradezco al resto de los doctores de la UNAM-I que han estado presentes, como son: La Dra. Betty, Dr. Marcel, Dr. Edwards, y ahora la Dra. Gaby, entre otros compañeros de laboratorio que han pasado por ahí, gracias a todos ellos aprendí cosas que en la escuela no enseñan, un poco sobre otros proyectos y técnicas de biología molecular, procesamiento de datos, entre otras cosas.

Dedicatoria

A mis familiares, amigos, profesores y compañeros de laboratorio.

A todo aquel que lea esta tesis espero la consideren informativa y les sirva a otras generaciones para sus proyectos de investigación.

Agradezco a todos por su apoyo a lo largo de mi vida, ya sea personal o académica. He compartido con todos ustedes grandes y hermosos momentos que siempre estarán presentes conmigo, tal vez muchos consideren esta tesis como mi primer libro.

Mi familia fue muy paciente para ver esta obra realizada en papel, y sobre todo esperan ver aquel papel que me dará oficialmente el grado como Q.F.B.

Espero este proyecto les llene de orgullo y vean que aunque fue tardado el proceso, bien valió la pena. Gracias por el apoyo incondicional que siempre me han brindado, y por haberme permitido llegar hasta donde estoy ahora, el resto me corresponde avanzar y descubrirlo por mi cuenta. A mi

papá que desde niña me impulsó a que siempre optará por la ciencia, sobre todo por el área química y sus maravillosas ramas, mi mamá y hermana que también han estado ahí. A mis tíos y primos, los quiero demasiado y a muchos de ustedes los extraño, y agradezco haber tenido la oportunidad de verlos tras casi una década, espero volver muy pronto.

A mis buenos amigos, que han estado presente en las buenas y en las malas, siempre atentos y curiosos por lo que hacía en vacaciones, mis fieles compañeros de aventuras, presentes dentro o fuera de la escuela; así como TR, el Echelon entre otros.

A Víctor mi novio, quien ha tenido que soportar este largo proceso, y es quien más presionó para que pudiera llegar hasta este punto, siempre presente en mis pensamientos, en todo momento y en cualquier situación, sin importar las adversidades que se presenten. Te amo mucho. También estoy agradecida con su familia, ya que también me han apoyado en este proceso, los aprecio mucho.

Agradezco a Omar y a mi prima Fátima por apoyarme con la creación de la portada, plasme un poco de arte en mi tesis, ya que la ciencia y el arte armonizan perfectamente, y no tendrían porque estar peleados.

Y como olvidar a los profesores ya fueran excelentes o muy malos, si algún día llego a ser docente me llevo sus buenas enseñanzas y tratare de evitar las malas. Todos contribuyeron en mi formación profesional, me han enseñado, guiado, y quizá algunas veces reprendido. Buenos momentos tuve con varios de ellos a lo largo de mi formación académica. Es para mí una satisfacción enorme el haber cumplido algunos sueños más durante este periodo, vamos por más. Y al igual que los buenos y malos profesores, tuve compañeros de los cuales aprendí mucho, algunos de ellos se convirtieron en grandes amigos, los mejores y otros espero no recordar o encontrarlos de nuevo.

Y para concluir, aquellos lindos y peludos mamíferos, en primer lugar me refiero a mis amados perritos: Jello, Gary, Robin y Botitas que han estado conmigo para darme alegría en todo momento. Y a las ratitas, y demás roedores que día con día, nos dan su vida para que como este, y muchos otros proyectos se realicen alrededor del Mundo, con el objetivo de hacer un beneficio por la humanidad.

“Hay ocasiones en las que hay que apostar por uno mismo, siempre perseguir nuestros sueños y estar dispuestos a fracasar. Ser valiente, luchar por lo que creemos y hacer de ellos una realidad” – Leto J. J.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
MARCO TEORICO	8
CAPÍTULO 1. DEPRESIÓN	8
CAPÍTULO 2. LA NICOTINA COMO ANTIDEPRESIVO	35
CAPÍTULO 3. NEUROENDOCRINOLOGÍA DE LA RATA HEMBRA	55
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	78
HIPÓTESIS.....	78
OBJETIVOS.....	78
METODOLOGÍA	79
RESULTADOS.....	84
DISCUSIÓN	90
CONCLUSIONES.....	94
PERSPECTIVAS.....	95
GLOSARIO	96
REFERENCIAS	98

INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno mental heterogéneo crónico complejo que se manifiesta con diversos síntomas, del cual se desconocen algunos aspectos de su fisiopatología.

A pesar de abundantes estudios clínicos y experimentales, aun no se ha logrado comprender en su totalidad los mecanismos de acción de los fármacos utilizados para su tratamiento.

Esto ha propiciado el estudio de fármacos antidepresivos para entender dichos mecanismos mediante el desarrollo de modelos animales, gracias a estos estudios es que se han obtenido datos acerca de las acciones de los antidepresivos en diversas estructuras cerebrales desde el punto de vista neuroquímico, electrofisiológico y conductual, lo que ha permitido proponer nuevas hipótesis que tratan de explicar los procesos neurofarmacológicos que subyacen a las acciones terapéuticas de los antidepresivos.

El análisis conductual en animales de experimentación es una herramienta utilizada para la investigación farmacológica y la evaluación de antidepresivos. En la cual destaca la prueba de nado forzado desarrollada por Porsolt, que simula varios aspectos de la depresión clínica. Es utilizada para predecir el efecto antidepresivo de fármacos en desarrollo, que validan al modelo experimental para las acciones de los antidepresivos, ya que la administración de diversos fármacos con propiedades antidepresivas disminuye la inmovilidad de los animales a las que se les realiza esta prueba.

Al parecer este efecto, es mediado por la interacción con los sistemas de neurotransmisión, serotoninérgico, noradrenérgico, dopaminérgico y/o gabaérgico. Por lo que este modelo es de los más utilizados para el estudio de los antidepresivos, y de los receptores neuronales involucrados en las acciones farmacológicas de estas sustancias.

La nicotina tiene un efecto antidepresivo cuando es administrada de forma aguda, el cual se ve reflejado como una disminución en la inmovilidad durante la prueba de nado forzado. Su efecto sobre el sistema nervioso central resulta de la interacción con los receptores nicotínicos de la acetilcolina.

Se ha reportado que individuos deprimidos tienden a fumar un mayor número de cigarrillos en comparación con los sujetos no deprimidos.

Por otro lado, el ciclo estral se encuentra estrechamente relacionado con los cambios en el epitelio del tracto reproductivo, cada fase del ciclo tiene relación directa con los niveles hormonales de: hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), progesterona (P4) y estradiol (E2).

Es posible determinar la fase estral observando su citología mediante microscopía óptica. El efecto de los estrógenos y los cambios en las distintas fases, indican que el efecto de los

estrógenos sobre la mucosa vaginal es mucho más pronunciado que el de la progesterona. Debido a esta ciclicidad hormonal es que no se utilizan con regularidad hembras como modelos animales, y por lo tanto los estudios sobre depresión no reportan las posibles diferencias sexuales.

De acuerdo a lo mencionado, este trabajo se diseñó para evaluar el efecto antidepresivo de la nicotina, durante las diferentes fases del ciclo estral en ratas hembras y determinar si existen diferencias con los machos.

MARCO TEORICO

CAPÍTULO 1. DEPRESIÓN

1.1 ¿Qué es?

La depresión es definida por la Asociación Americana de Psiquiatría (1994)¹ como un trastorno heterogéneo crónico que a menudo se manifiesta con síntomas psicológicos, conductuales y fisiológicos².

Se trata de un trastorno mental frecuente, que se caracteriza de manera general por la presencia de tristeza y la pérdida de interés y de placer^{3,4}, así como de confianza en sí mismo y se presenta un sentimiento de inferioridad o culpa, falta de autoestima; incluso en los episodios más leves están presentes las ideas de culpa y de ser inútil⁴.

Existe una disminución de la concentración, disminución de la vitalidad y una reducción en el nivel de actividad⁴, mostrándose como cansancio exagerado que aparece incluso tras un esfuerzo mínimo^{3,4}, el cual dificulta sensiblemente el desempeño en el trabajo o la escuela, y la capacidad para afrontar la vida diaria^{3,5}.

También puede acompañarse de síntomas “somáticos”, como trastornos de sueño, empeoramiento matutino del humor depresivo, clara inhibición o agitación psicomotrices, pérdida marcada del apetito, pérdida de peso y del libido^{3,4}, y en su forma más grave, puede conducir al suicidio^{3,5}. Es distinta de las variaciones habituales del estado de ánimo y de las respuestas emocionales breves a los problemas de la vida cotidiana, que puede convertirse en un problema de salud serio, especialmente cuando es de larga duración e intensidad moderada a grave⁵.

La depresión es una perturbación compleja, un síndrome con diferentes matices sintomáticos promovido por múltiples causas que afecta al sujeto tanto por el alto grado de sufrimiento psíquico que le promueve como por sus secuelas personales y sociales.

El término depresión ha sido erróneamente utilizado para describir, en forma indistinta, tanto sentimiento de tristeza relacionado con una situación no placentera, como un estado de ánimo pasajero o estable, un síntoma o una estructura psicopatológica ya que como se ha mencionado, va mucho más allá de eso.

Cuando una persona está deprimida, aunque así no lo refiera o no se percate, por lo habitual consulta a su médico clínico o de cabecera, al igual que cuando la depresión se presenta con su ropaje somático, de manera enmascarada o somatiforme. Es una enfermedad caracterizada por episodios de humor depresivo, cada episodio se caracteriza por una depresión del estado de ánimo, puede llegar a hacerse crónica o recurrente⁵. Sus formas clínicas pueden ir desde aquellas más leves e indetectables, que se puede tratar sin necesidad de medicación, pero en aquellos trastornos depresivos subclínicos crónicos que

cuentan con un carácter moderado o grave, es necesario llevar un tratamiento con psicoterapia profesional y medicación³.

Sin embargo, más allá de la presentación inicial, un mismo paciente puede padecer diferentes subtipos de depresión a lo largo de su vida lo que se conoce como “pleomorfismo evolutivo de los subtipos”².

La depresión es un trastorno que se puede diagnosticar de forma fiable y que puede ser tratado por no especialistas en el ámbito de la atención primaria. La depresión es un trastorno mental frecuente y una de las principales causas de discapacidad en todo el mundo¹.

Sin embargo, el término depresión, ampliamente utilizado en la literatura especializada y en la práctica clínica, es confuso, ambiguo y equívoco, y reduce la enorme heterogeneidad de los trastornos depresivos a una única categoría clínica. Incluso la “depresión mayor” teóricamente mejor delimitada, resulta excesivamente heterogénea e inespecífica, especialmente en contextos clínicos no especializados, como en atención primaria².

Es por esa razón que se han desarrollado modelos animales que delimitan algunas características para ser estudiadas de forma independiente o conjunta y así tratar de caracterizarla mejor.

1.2 Epidemiología

La depresión es una enfermedad frecuente en todo el mundo, y se calcula que afecta a unos 300 millones de personas⁵, más del 21% de la población mundial, y se considera como un problema de salud pública⁶ con mayor prevalencia en las mujeres que en los hombres^{3,4}. Se ha calculado que la prevalencia puntual promedio de los episodios depresivos es de 1.9% para los hombres y 3.2% para las mujeres, además se calcula que el 5.8% de los hombres y 9.5% de las mujeres presentará un episodio depresivo en un período de 12 meses, aunque estas cifras de prevalencia varían de una población a otra. La depresión puede afectar a los individuos en cualquier etapa de la vida, con una mayor incidencia en la madurez⁴.

El análisis actualizado en 2004 de morbilidad mundial, muestra que los trastornos depresivos representan un enorme problema para la sociedad y se clasifica como la tercera causa más importante de entre todas las enfermedades, y son responsables de 4.3% del total de años de vida ajustados en función de la discapacidad. Para el año 2030, de seguir las tendencias actuales de control transmisible de las enfermedades, la transición demográfica y epidemiológica, la depresión aumentará a 6.2%, y al igual que otros trastornos mentales, esta va en aumento⁵.

La depresión es esencialmente un trastorno episódico recurrente; cada episodio dura generalmente de unos pocos meses a algunos años. Sin embargo, la depresión presenta un curso crónico sin remisión, especialmente cuando no se administra el tratamiento

adecuado. La tasa de recidiva para los que se recuperan del primer episodio es de aproximadamente 35% en 2 años y cerca de 60% a los 12 años, y es mayor en los que tienen más de 45 años. Uno de los desenlaces del trastorno depresivo particularmente trágico es el suicidio, cada año se suicidan más de 800,000 personas, siendo la segunda causa de muerte de los 15 a 29 años⁵.

Estadísticamente, la tasa de prevalencia de la depresión, es decir, el número de individuos que tienen esta enfermedad, varía del 3 al 6% de la población general, dependiendo de la región. El riesgo de morbilidad, la posibilidad de enfermarse durante su vida, es del 20%. Esto implica que cada cinco personas que nacen padecerá depresión al menos una vez en su vida y de estas, el 70% de los casos tendrá más de un episodio. La edad de aparición del primer episodio es cada vez más temprana y el comienzo precoz incrementa el riesgo de recurrencia y cronicidad⁵.

El riesgo de padecer depresión es de 2 a 6 veces mayor en parientes de primer grado que en aquellos que no tienen antecedentes familiares y en aquellos con una historia familiar de problemas afectivos o alcoholismo, enfermedades crónicas, trastornos de la personalidad e historia de eventos traumáticos tempranos o abuso infantil⁵. Se corre un mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular^{2,4,7} y diabetes mellitus tipo 2 (DM2)⁸.

La depresión ocurre casi dos veces más frecuentemente en mujeres que en hombres, esta prevalencia se ha atribuido a varios factores biológicos, predisposición, los cambios hormonales asociados con la función reproductiva y a la hipersensibilidad a los cambios conocidos por precipitar la depresión^{9,10}.

Alrededor del 40 al 50% de riesgo de padecer depresión es genético. Y factores no genéticos, como el estrés, traumas emocionales, infecciones, etc., durante el desarrollo del cerebro, se han implicado en la etiología de la depresión¹⁰.

1.3 Clasificación

Dependiendo del número y de la intensidad de los síntomas, los episodios depresivos pueden clasificarse como leves, moderados o graves^{4,5,11}. El DSM-V (La quinta edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales) refiere las características principales de la depresión, y crea un código diagnóstico para clasificar los trastornos mentales de los pacientes y establecer un lenguaje común entre los profesionales, respecto de los trastornos depresivos describe algunos subtipos, teniendo en cuenta la clínica, la severidad y la cronología respecto al episodio. Los trastornos depresivos descritos en el manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales se clasifican en¹²:

Trastorno de desregulación disruptiva del estado de ánimo: El rasgo central es una irritabilidad crónica, grave y persistente.

Esta irritabilidad grave tiene dos manifestaciones clínicas relevantes, accesos de cólera frecuentes que ocurren típicamente en respuesta a la frustración y pueden ser verbales o conductuales, deben ocurrir frecuentemente durante al menos un año y en dos ambientes distintos, además deben ser inapropiados para el grado de desarrollo. Este tipo de trastorno se clasifica como depresión porque es un trastorno del estado de ánimo que prevalece por un periodo largo de tiempo y es tratado con antidepresivos¹².

Trastorno de depresión mayor (MDD): El código diagnóstico del trastorno de depresión mayor se basa en si es un episodio único o recurrente, la gravedad actual, la presencia de características psicóticas y el estado de remisión. Sólo se puede diagnosticar como tal si cumple todos los criterios para un episodio de depresión mayor. El rasgo principal es que se presenta en periodo de tiempo de al menos dos semanas, en el cual existe ánimo depresivo o pérdida del interés o del placer en casi todas las actividades.

En los niños y los adolescentes, el ánimo suele ser irritable más que triste. Se caracteriza por cinco (o más) de los siguientes síntomas: estado de ánimo deprimido, pérdida de interés, trastornos de alimentación y de sueño, actividad psicomotora o retraso, pérdida de energía, sentimientos de inferioridad o culpa, dificultades para pensar, concentrarse o tomar decisiones y pensamientos recurrentes de muerte, ideas, planes o intentos de suicidio.

Para que un síntoma forme parte del diagnóstico para debe de ser nuevo o haber empeorado claramente en comparación con el estado de la persona antes del episodio.

Los síntomas deben persistir la mayor parte del día, durante al menos dos semanas consecutivas. El episodio debe acompañarse de un malestar clínicamente significativo o de una alteración del funcionamiento social, ocupacional o de otras áreas importantes.

En algunos pacientes con episodios leves, el funcionamiento parece normal, pero requieren de un esfuerzo notable para realizar sus actividades. El ánimo en el episodio depresivo mayor a menudo es descrito por la persona que lo padece como estar deprimido, triste, desesperanzado, desanimado o "por los suelos"¹².

Trastorno depresivo persistente (distimia): El rasgo principal de este trastorno es un ánimo deprimido que aparece la mayor parte del día, durante la mayor parte de los días, durante al menos dos años o al menos durante un año en los niños y los adolescentes.

La depresión mayor puede preceder al trastorno depresivo persistente, y los episodios de depresión mayor pueden ocurrir durante el trastorno depresivo persistente.

Durante los periodos de ánimo deprimido deben presentarse al menos dos de los siguientes síntomas: trastornos alimenticios, trastornos de sueño, poca energía o fatiga, baja autoestima, falta de concentración o dificultad para tomar decisiones y/o sentimientos de desesperanza¹².

Trastorno disfórico premenstrual: Las características esenciales son la expresión de labilidad afectiva, disforia y síntomas de ansiedad que se repiten durante la fase premenstrual del ciclo y que remiten alrededor del inicio de la menstruación o poco después.

Estos pueden acompañarse de síntomas conductuales y físicos, y deben haber aparecido en la mayoría de los ciclos menstruales durante el último año y deben afectar negativamente al funcionamiento laboral o social. Los síntomas alcanzan su cumbre alrededor del comienzo de la menstruación, y se debe tener un periodo libre de síntomas en la fase folicular después de que comience el periodo menstrual¹².

Trastorno depresivo inducido por una sustancia/medicamento: Las características diagnósticas incluyen los síntomas de un trastorno depresivo, como el trastorno depresivo mayor; sin embargo, se asocian al consumo, la inyección o la inhalación de una sustancia y persisten más tiempo de lo que cabría esperar de los efectos fisiológicos o del periodo de intoxicación o de abstinencia. Se debe haber desarrollado durante el consumo de una sustancia capaz de producir un trastorno depresivo o dentro del mes posterior al mismo conforme a los datos de la historia clínica, la exploración física o los análisis de laboratorio.

El trastorno depresivo asociado al consumo, la intoxicación o la abstinencia de una sustancia debe causar un malestar clínicamente significativo o un deterioro social, laboral o de otras áreas importantes del funcionamiento para reunir las condiciones para este diagnóstico.

Algunos medicamentos pueden inducir alteraciones anímicas depresivas. Se distingue del resto, teniendo en cuenta el comienzo, el curso y otros factores asociados al consumo de sustancias. El estado de abstinencia de algunas sustancias se puede alargar relativamente y, por tanto, es posible que los síntomas depresivos intensos permanezcan durante largo periodo tras cesar su consumo¹².

Trastorno depresivo debido a otra afección médica: El rasgo esencial es un periodo de tiempo importante y persistente de estado de ánimo deprimido o una disminución notable del interés o del placer en todas o casi todas las actividades y que está relacionado con los efectos fisiológicos directos de la otra afección médica.

Se considera la presencia de una asociación temporal entre el comienzo, la exacerbación o la remisión de la afección médica general y la alteración del ánimo, además de la presencia de rasgos que son atípicos en los trastornos del ánimo primarios como por ejemplo: edad de comienzo y curso atípicos, ausencia de historia clínica familiar; aquellos datos que sugieran que el desarrollo de los síntomas del estado depresivo se encuentra relacionado con la enfermedad¹².

Otro trastorno depresivo especificado: Esta categoría se aplica a presentaciones en las que predominan los síntomas característicos de un trastorno depresivo que causan malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del

funcionamiento, pero que no cumplen todos los criterios de ninguno de los trastornos anteriores, y se utiliza en situaciones en las que el clínico opta por comunicar el motivo específico por el que la presentación no cumple los criterios dentro de la clasificación de los trastornos depresivos anteriores, y se realiza registrando “otro trastorno depresivo especificado” y el motivo, como por ejemplo: depresión breve recurrente, episodio depresivo de corta duración (4-13 días), episodio depresivo con síntomas insuficientes, etc¹².

Otro trastorno depresivo no especificado: Esta categoría se aplica a presentaciones en las que predominan los síntomas característicos del trastorno depresivo que causan malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento, pero que no cumplen todos los criterios de ninguno de los trastornos anteriores, y se utiliza en situaciones en las que el clínico opta por no especificar el motivo de incumplimiento de los criterios de un trastorno depresivo específico, e incluye presentaciones en las que no existe suficiente información para hacer un diagnóstico más específico (ej. servicios de urgencias)¹².

1.4 Causas de la depresión

Durante el siglo pasado, la psiquiatría planteó diversas hipótesis, a partir de tres líneas de pensamiento, para explicar la causa de los trastornos afectivos. Las tres líneas de pensamiento son:

Psicodinámica: Los diversos conflictos intrapsíquicos son la causa de los trastornos afectivos. Es decir, la depresión es causada por los conflictos psicológicos que se presentan en la infancia o en la edad adulta.

Aprendizaje-conductual: Esta línea de pensamiento considera que las emociones, pensamientos y sentimientos son aprendidos, y que los reforzamientos negativos de las conductas asociadas a ellos, son los que provocan los trastornos afectivos.

Psicobiológica: Considera que los trastornos afectivos son causados por factores biológicos (alteraciones neuroquímicas). La hipofunción o disfunción de más de una vía neuronal (como las noradrenérgicas, colinérgicas, dopaminérgicas o las serotoninérgicas) se ha considerado como la principal causa de la depresión¹³. Varios de estos sistemas de neurotransmisión participan tanto en la expresión como en la regulación de las conductas que acompañan a los trastornos afectivos¹⁴.

En esta línea de pensamiento existen varias hipótesis que tratan de explicar qué vías neuronales están involucradas en el desarrollo de la depresión.

En la década de los 60, se estableció que la depresión clínica estaba asociada con una deficiencia de catecolaminas, noradrenalina y serotonina, en ciertas regiones del cerebro, mientras que la manía se correlacionaba/asociaba con un exceso de catecolaminas^{15,16}. Por

lo que surgieron varias hipótesis para explicar mediante mecanismos fisiopatológicos las posibles causas de la depresión. Estas hipótesis se explican a continuación:

1.4.1 Hipótesis monoaminérgica

La hipótesis original de las catecolaminas se basaba en dos evidencias primarias: 1) se encontró que la reserpina, un antihipertensivo que depleta las reservas de catecolaminas, inducía depresión en algunos pacientes¹⁷, y 2) se encontró que los medicamentos antidepresivos inhibidores de la monoaminoxidasa y tricíclicos, elevaban la actividad de las catecolaminas en el cerebro, produciendo mejoría clínica¹⁸. A partir de estas observaciones se consideró que la depresión es causada por una disminución de las catecolaminas.

En la hipótesis monoaminérgica se establece que el síndrome se origina por la menor disponibilidad de monoaminas en el cerebro, principalmente de serotonina (5-HT) y noradrenalina (NA)¹⁹.

La hipótesis originalmente se basa en que la mayoría de los fármacos antidepresivos aumentan el nivel cerebral de 5-HT y NA mediante la inhibición de su recaptura o de su degradación enzimática. Estudios recientes aportan mayor sustento a la hipótesis.

Por ejemplo, imágenes con tomografía por emisión de positrones (PET) revelan que pacientes con depresión muestran mayor expresión de la monoamino-oxidasa A (MAO-A) en la corteza prefrontal (CPF), la corteza temporal, el hipocampo, el tálamo, el núcleo accumbens (NAcc) y en el mesencéfalo²⁰. Este hallazgo hace suponer que la mayor tasa de degradación de 5-HT y NA es uno de los mecanismos fisiopatológicos que atenúa la transmisión monoaminérgica. Por su parte, el polimorfismo G1463A en el gen de la enzima triptófano hidroxilasa tipo 2 humana (hTPH2) sugiere que el déficit serotoninérgico reside en la síntesis de 5-HT, ya que el cambio del aminoácido resulta en la pérdida del 80% de la función enzimática.

Una evidencia clínica que apoya la hipótesis monoaminérgica proviene de estudios en pacientes sometidos al protocolo de depleción del triptófano (Trp) cerebral. Una predicción del paradigma es que la depleción facilita la recaída depresiva sólo en aquellos pacientes que respondieron al tratamiento con los inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (ISRS)²¹.

En un estudio post-mortem, en pacientes diagnosticados con depresión mayor, se midió la unión de ligando del transportador de NA en el locus coeruleus (LC) con un radioisótopo "nisoxetina" (3H), donde se mostró una menor densidad del transportador de NA en la región caudal de LC, con respecto a los sujetos control²², por lo que este cambio podría dar como resultado una menor biodisponibilidad de la NA en la sinapsis, considerando que la mayor expresión de la MAO-A se da en el mesencéfalo²⁰.

En otros estudios, con pacientes con depresivos en donde se midieron niveles de MHPG (3-metoxi-4-hidroxifenilglicol), el mayor metabolito de la NA, en orina, sangre y líquido cefalorraquídeo, se mostró una relación entre los niveles disminuidos de MHPG y el estado depresivo, encontrándose los niveles de MHPG significativamente menores en relación con controles.

Tomados en conjunto estos resultados, se confirman alteraciones en el sistema NA, por un lado se encontró una disminución de NA y por otro, una menor densidad de su transportador en el LC, por lo que se hace difícil sostener una hipótesis clara.

Así que la depleción de catecolaminas no causa depresión en todos los pacientes pero sí claramente en aquellos que ya estaban predispuestos a ella¹⁷. Aunque desde una perspectiva actual las hipótesis de depleción de monoaminas parecen una visión simplificada de la fisiopatología de la depresión, tuvo el mérito de estimular la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos antidepresivos²³.

1.4.2 Hipótesis Neurotrófica.

En la hipótesis neurotrófica se propone que la depresión también se debe a la atrofia neuronal producto de la menor expresión del factor de crecimiento derivado del cerebro (BDNF)²⁴. Al igual que en la hipótesis monoaminérgica también se propone que el estrés crónico causa una irregularidad en el eje hipotálamo-pituitaria-corteza adrenal, propiciando la exposición sostenida del tejido nervioso al cortisol y, con ello, la inhibición de la expresión del BDNF.

Estudios post-mortem, han observado una menor expresión del BDNF y de su receptor TrkB en el hipocampo y en la CPF de pacientes con depresión, respecto a individuos sin padecimiento psiquiátrico al momento del deceso²⁵.

En otro estudio se reporta que pacientes con depresión bajo tratamiento farmacológico muestran una mayor expresión del BDNF en el hipocampo, comparado con pacientes sin tratamiento.

En investigación básica, con estudios realizados en roedores sometidos a estrés crónico. Se observa un efecto común al estrés, ocurre una menor expresión del BDNF y de su receptor TrkB en el hipocampo; mientras que la administración crónica de antidepresivos revierte el efecto del estrés sobre ambas proteínas²⁶⁻²⁸.

Los antidepresivos reducen el daño inducido por el estrés sobre la arborización dendrítica de las neuronas piramidales del hipocampo¹⁰ estimulando la neurogénesis²⁹.

En un experimento en donde se utilizó la prueba de nado forzado (PNF), se reportó que la inyección de BDNF (un día antes de la prueba) en el hipocampo de la rata, cuenta con un efecto antidepresivo similar al tratamiento farmacológico³⁰. Sin embargo, solo se logra

observar un efecto de aumento del BDNF y de su receptor, con un tratamiento crónico (21 días) con antidepresivos²⁷. Es decir, el desfase entre el efecto conductual en la PNF y de la expresión del BDNF debe tomarse en cuenta para solventar la hipótesis neurotrófica¹⁹.

Sin embargo, se explicarían las razones por las cuales los tratamientos con antidepresivos necesitan al menos un mes para tener efecto.

1.4.3 Hipótesis del balance aminérgico-colinérgico

Postula un desequilibrio en la neurotransmisión central con una actividad predominante de la acetilcolina en la depresión. Esta hipótesis se ha integrado con el modelo de interacción recíproca de regulación del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), al considerar la relación entre los trastornos del sueño MOR y la depresión³¹.

Esta idea propone la conceptualización de sistemas de control comunes para el sueño MOR y el estado de ánimo; en un balance relativo entre el sistema monoaminérgico (en forma de una disminución en la tasa de disparo de las neuronas del núcleo del rafé) y el sistema colinérgico, lo que determina los correlatos biológicos y subjetivos de alteraciones del estado de ánimo, particularmente sobre la regulación del sueño MOR.

El sueño MOR tiene un papel importante al “desinhibir” los circuitos del núcleo pedunculopontino tegmental del tallo cerebral (PPT) y del núcleo laterodorsal (LDT), y con ello los circuitos sinápticos colinérgicos que participan en la regulación del sueño MOR³¹.

Esta hipótesis se comprobó al mostrar que la activación del sistema serotoninérgico en ratas intactas, inducida por la administración de fluoxetina, nicotina y su combinación, puede alterar el equilibrio relativo entre el sistema monoaminérgico y el colinérgico, lo que podría inhibir los circuitos colinérgicos PPT/LDT y con ello disminuir o suprimir el sueño MOR^{31,32}.

1.4.4 Hipótesis de la dicotomía noradrenalina/serotonina

Parecería que la fisiopatología primaria de la depresión no consiste en una deficiencia de NA³³ ni de 5-HT¹⁸. Sin embargo, una disfunción conjunta de los circuitos de NA y 5-HT podría mediar muchos de los grupos de síntomas de la depresión.

Al existir una deficiencia de NA se puede presentar: déficit en memoria y atención, disminución de la concentración, socialización reducida y alteración de los estados de activación.

Mientras que con una deficiencia de 5-HT se observa un pobre control de impulsos, disminución del impulso sexual, disminución del apetito e irritabilidad.

Las alteraciones en los sistemas de NA y 5-HT, podrían representar una vía final común neuroquímica de una falla homeostática¹⁸, que podría ser iniciada por alteraciones neuroquímicas diferentes de las aminas biogénicas.

1.4.5 Modelo integrado

Actualmente se sabe que la depresión es una enfermedad sistémica, heterogénea y compleja, que afecta a diferentes sistemas, y que sus principales manifestaciones se expresan en el plano psíquico. Involucra alteraciones en los sistemas de neurotransmisión cerebrales y en los sistemas neuroendocrinos e inmunológicos, en consecuencia existe una gran variedad de síntomas observables en la fase depresiva³⁴, sin embargo, no todos los sujetos responden de manera similar, y esto es debido porque las siguientes condiciones son diferentes entre sujetos:

- ✓ Vulnerabilidad biológica
- ✓ Historia personal del paciente
- ✓ Desencadenantes psicosociales
- ✓ Condición fisiológica general
- ✓ Rasgos y organización de la personalidad

Esta hipótesis considera que la depresión se origina en la interacción compleja entre una predisposición genética y sucesos vitales, como trauma o abuso infantil, los que producen cambios significativos en la actividad del sistema nervioso central.

El resultado es una hiperactividad del sistema de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) que conduce a una hipercortisolemia, y a una hiperactivación del sistema noradrenérgico.

Tanto la CRH como el sistema noradrenérgico son los mediadores de la respuesta al estrés. Ambos sistemas ejercen amplias influencias, en el cerebro (SNC) y a nivel periférico, a través del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y del sistema nervioso autónomo (SNA). Estas alteraciones neurobiológicas pueden persistir durante la vida adulta, llevando a un sistema hipersensible al estrés.

Esta hipersensibilidad al estrés predispone tanto a los trastornos ansiosos como a los depresivos, condiciones clínicas que exhiben una elevada comorbilidad. Por lo que se explicaría la tendencia a la recurrencia en los trastornos del estado de ánimo, ya que episodios sucesivos vuelven más vulnerable al sistema, y por lo tanto más predispuestos a sufrir nuevas fases depresivas³⁴.

1.5 Modelos animales de depresión

La utilización de modelos en psicología y psicopatología ofrece la posibilidad de poner a prueba un nuevo tratamiento o una teoría concreta. Este es el significado que hay que dar a los modelos animales, también llamados experimentales. Se crea una identidad cualitativa entre mecanismos y procesos que dan cuenta del comportamiento humano y con los del animal con que se experimenta.

En el caso de la psicopatología humana, un modelo animal supone, la producción en condiciones controladas, de los fenómenos análogos a los desórdenes comportamentales que ocurren espontáneamente de forma que podamos llegar a alcanzar conclusiones acerca de la contribución de factores sociales, ambientales o biológicos.

Para establecer una relación entre trastornos comportamentales y las disfunciones cerebrales es necesario, hay que evaluar estas alteraciones para desarrollar técnicas capaces de aportar información sobre su base biológica al crear modelos animales.

Se han descrito diferentes criterios para valorar un modelo animal de psicopatología humana, que buscan determinar los objetivos y limitaciones de cada uno en particular³⁵.

Como en los otros desórdenes psiquiátricos, es imposible tener un modelo animal perfecto de depresión¹⁰, ya que solo se pueden modelar con precisión los signos, mientras que los síntomas, en el mejor de los casos, se pueden inferir.

Una decisión importante con respecto al modelo de depresión es la elección del sistema, es decir, la especie con la que se trabajará.

Resultaría obvio que las enfermedades psiquiátricas complejas serían mejor modeladas en animales que están estrechamente relacionados con los humanos como primates.

Si bien hay una serie de destacados investigadores que trabajan con modelos de primates no humanos para investigar depresión^{35,36}, hay muchas cuestiones éticas, políticas y prácticas que impiden la investigación con estos modelos a mayor escala.

Por lo tanto, la mayor parte de la comunidad científica modela la depresión en roedores para los trastornos psiquiátricos y han resultado igual de útiles que los primates.

¿Cómo puede utilizarse un modelo en roedores como ratas o ratones para estudiar una enfermedad tan compleja como la depresión? Este es un problema crítico dado que algunos síntomas centrales de la depresión, como: baja autoestima, sentimientos de culpabilidad o pensamientos suicidas no pueden modelarse. Aunque algunos de estos aspectos pueden tener sus correlatos en primates no humanos, tampoco se pueden modelar en primates con certeza.

Por ello es un hecho que no puedan modelarse³⁷, ya que los animales no cuentan con una conducta humana típica como baja autoestima o tendencias suicidas, otras muchas características de este complejo desorden pueden ser modeladas.

Si bien la enfermedad depresiva humana es única, muchos de sus signos pueden ser modelados en roedores.

Basándose en la etiología humana, se ha supuesto que la depresión puede ser modulada por algunos de los efectos de programación temprana de la vida.

Varios pacientes con depresión presentaron situaciones problemáticas durante la infancia. Así, la manipulación temprana ha sido utilizada como factor para el desarrollo de síntomas parecidos a la depresión tales como anhedonia, estrategias de supervivencia pasiva y cambios neuroendocrinos.

Los paradigmas de vida temprana que se han evaluado incluyen protocolos de manipulación, separación o privación maternal, así como enriquecimiento o empobrecimiento ambiental.

Sin embargo, para la mayoría de los paradigmas de la vida temprana, la validez de la depresión es limitada³⁵.

Si bien cualquier modelo animal no es igual al proceso u objeto “modelado”, los modelos animales de psicopatologías humanas buscan desarrollar síndromes en animales que asemejen en humanos para estudiar los aspectos de la psicopatología humana.

Se han desarrollado algunos principios generales para elaborar los diferentes tipos de modelos conductuales, que permiten determinar cómo el modelo puede ser analizado dentro de las neurociencias, la psicología y la psicofarmacología.

Los modelos conductuales son los que pueden usarse para estudiar la función cerebral, los utilizados para investigar procesos psicológicos o para determinar la acción de drogas.

Estos tres tipos de modelos pueden ser referidos como bioensayos conductuales, simulaciones y pruebas de cernimiento o tamizado³⁸.

Los bioensayos conductuales permiten analizar el estado funcional de un sistema fisiológico.

Uno de los usos del ensayo conductual es el estudio los mecanismos responsables de los cambios en la función cerebral que resulta de la administración de drogas, lesiones cerebrales u otras manipulaciones experimentales. Estos ensayos conductuales tratan de provocar una característica que se parezca (apariencia) a la depresión.

Los principales signos/síntomas de la depresión en los seres humanos equivalente en animales se muestran en la tabla 1. Por lo tanto, para alcanzar cierto nivel de validez de apariencia con modelos animales de depresión, hay que alcanzar la equivalencia descrita, aunque hay que reconocer que las pruebas disponibles suelen ser sólo una aproximación de la lectura o resultado esperado³⁹.

Comparación de los principales síntomas de depresión en humanos con una analogía de los parámetros en roedores.

Principales signos en humanos	Parámetros análogos en roedores
Tristeza, pérdida de placer	Anhedonia
Pérdida de interés, falta de motivación	Estrategias “coping” pasivas; baja actividad locomotora, disminución en la motivación dirigida a un incentivo
Trastornos de sueño	Patrones de actividad/Sueño alterados
Ansiedad	Ansiedad, miedo
Déficit cognitivos	Aprendizaje y memoria disminuidos
Hipercortisolismo	Hipercortisolismo

Tabla 1. Comparación de los principales síntomas de depresión en humanos con una analogía de los parámetros en roedores. (Modificado de Pryce CR, Seifritz E., 2010)³⁹.

Muchos modelos tienen que conformarse con un subconjunto de aspectos que no son muy específicos para la depresión, la falta de especificidad de los síntomas refleja la complejidad real del síndrome de depresión, que también se está haciendo evidente a partir de polimorfismos humanos que están asociados con múltiples enfermedades⁴⁰.

El nivel de similitud con los síntomas de la enfermedad (validez de apariencia) es uno de los criterios básicos de validez de Willner y sus colegas^{39,41}.

Esta validez se refiere a similitud entre aquello que se observa en el modelo y el proceso o trastorno psicopatológico que se intenta simular, la cual dependerá de la unanimidad y precisión en los criterios vigentes para el diagnóstico de la psicopatología que se pretende simular.

En muchos casos la sintomatología humana se basa en experiencias subjetivas, por lo que muchas veces es imposible simular en modelos animales.

Este tipo de validez es prescindible en la investigación, si al menos cumple con validez predictiva (validez práctica)⁴⁰.

En la historia de la humanidad, los modelos animales han sido herramientas para el estudio de enfermedades, y en la actualidad, se han utilizado para el estudio de conductas anormales de los trastornos afectivos, por lo cual cualquier modelo animal de trastornos psicopatológicos se evalúa generalmente tomando tres criterios que se han orientado fundamentalmente a valorar tres aspectos cruciales^{38,41}. Además de la validez de apariencia

existen otros dos criterios de validez a menudo considerados para un posible modelo animal de depresión lo constituyen la validez constructiva o teórica, y la validez predictiva o práctica.

La validez constructiva implica que el razonamiento teórico del modelo es el mismo que en una situación humana real.

De esta manera, los factores de riesgo más conocidos de depresión, tanto genéticos como ambientales, se incorporan en un modelo animal, lo que da mayor es la validez de este modelo.

También exige que los mecanismos psicopatológicos reales son similares entre enfermedad y el modelo.

Esta demanda de etiología de una condición en humanos y en el modelo animal también se ha definido como validez etiológica⁴².

Seguramente, dicha validez no es perfecta, sólo debido a los acontecimientos de "vida temprana", pero tendría que incorporar factores como el abandono emocional como los descritos previamente.

El modelo debe presentar consistencia teórica, y contrastar o medir aquello que pretende simular, asumiendo la posibilidad de que ciertas explicaciones, teorías o hipótesis sobre la psicopatología humana (aspectos específicos o síntomas) puedan ser aplicables a otras especies.

Enjuiciar la validez teórica implica determinar el grado de similitud o analogía entre los antecedentes, variables (o procesos) intervinientes, y consecuentes que aparecen en el modelo y en la condición que se pretende modelar.

Consta de un proceso dinámico, en evolución continua, ya que las mismas teorías o hipótesis sobre los mecanismos (psicológicos o neurobiológicos) antecedentes e intervinientes en cualquier neuropsicopatología están sometidas a permanentes cambios⁴⁰.

Algunos de los modelos a los que se les atribuye validez teórica tenemos: indefensión o impotencia aprendida (IA), separación temprana, pérdida del incentivo, auto estimulación cerebral, así como modelos cuya característica sea la aplicación de "estrés" crónico y la inducción de diversos síntomas comportamentales o endocrinos³⁹.

La validez teórica aumentará entre más similares sean los fundamentos teóricos en el modelo, y con la condición modelada.

El grado de validez práctica o predictiva estará dado por el éxito en encontrar nuevos sistemas de tratamiento, nuevos fármacos eficaces, diferenciándolos de los que son ineficaces.

Este tipo de modelos, a los que Willner llama pruebas de exploración (screening) o pruebas conductuales (behavioral assays), según los datos farmacológicos o conductuales que se aporten, incrementaran su validez en la medida en que la eficacia clínica relativa de los tratamientos sea similar, esto se correlaciona con el efecto que surja del modelo experimental³⁹.

Si la correlación tiene un alto valor⁴³, este tipo de modelos permite profundizar en el conocimiento de los procesos bioquímicos responsables del efecto de los tratamientos, alcanzando de esta forma, cierto grado de validez teórica⁴⁴.

Los modelos prácticos muestran una validez predictiva en el tratamiento de una determinada psicopatología³⁹.

La validez predictiva se refiere a la capacidad del modelo para determinar el efecto que tienen ciertas sustancias farmacológicas (y aquellas que no lo son), permitiendo la predicción del tipo de efecto que tendrá sobre la condición que simula, por lo que se pueden identificar correctamente diversos tratamientos farmacológicos antidepresivos sin producir errores de omisión o comisión y correlacionar la potencia de tales sustancias en el modelo con su posible potencia clínica⁴⁵.

Este modelo debe presentar el mínimo posible de “falsos positivos” (sustancias o tratamientos que tienen efecto “terapéutico” en el modelo pero no en la condición humana simulada) y de “falsos negativos” (sustancias o tratamientos que no presentan efecto en el modelo y sí en la condición humana que se simula)⁴².

Así podemos distinguir entre modelos con alta validez predictiva para “predecir” si un fármaco tendrá efectos antidepresivos.

Modelos con alta validez de apariencia como los descritos previamente, y modelos teóricos, que son aquellos con alta validez de constructo que simulan las condiciones neuroendocrinas que subyacen a teorías que tratan de explicar a la depresión.

Direcciones de validez predictiva y la capacidad de éxito de las opciones de tratamiento para así mejorar la sintomatología en el modelo animal.

Estos criterios de validez, aunque a veces limitados en su aplicabilidad, continúan siendo muy útiles para evaluar la validez de un modelo, y compararlo con los diferentes modelos de aproximación entre sí.

Los modelos animales son una herramienta importante para investigar la enfermedad, ya que nos ayuda a tratar de entender los procesos fisiológicos que subyacen tanto a la fisiopatología de algún trastorno como a las acciones de los fármacos utilizados en su control.

Sin embargo, una serie de paradigmas prometen ser de utilidad en la investigación de la depresión, en combinación con los antecedentes genéticos^{32,37}, susceptibilidades genéticas, propiedades farmacológicas, consumo de sustancias y factores neurobiológicos envueltos en desórdenes depresivos¹⁰, y desafíos de la vida adulta³⁷.

En muchos de los casos, los conocimientos clínicos han tenido como punto de partida la investigación básica, por lo que resulta atractivo relacionar ambos campos de la investigación.

Los modelos de depresión constituyen una interface crítica entre la investigación básica y la clínica, que de manera general ayudan a entender los procesos neurobiológicos que subyacen tanto al cuadro depresivo como a las acciones de las sustancias utilizadas en su control⁴⁶.

Estudios epidemiológicos muestran que alrededor del 40 – 50% del riesgo de padecer depresión es genético⁴⁷ y al momento se han desarrollado al menos 4 líneas de ratas genéticamente modificadas⁴⁸.

La depresión también es descrita como un desorden relacionado con el estrés. Y una buena evidencia consiste en episodios de depresión a menudo se manifiestan en pacientes estresados, aunque el estrés puede no ser suficiente para causar depresión⁶.

Como resultado de los antecedentes mencionados, todos los modelos animales siguen dos principios: Acción de antidepresivos conocidos y respuesta al estrés⁴³. Algunas de estas pruebas, en particular el nado forzado han sido muy útiles en predecir eficacia antidepresiva de nuevas sustancias.

Un dato curioso es que por serendipia, al tratar de desarrollar una cepa genéticamente resistente a los efectos del organofosfato anticolinesterasa, diisopropilfluorofosfato (DFP)³⁶, se obtuvo el resultado contrario, una línea de ratas sensibles a tal sustancia, la línea Flinders Sensible (FSL, por sus siglas en inglés).

Las ratas FLS son hiper-responsivas a la estimulación colinérgica y muestran una exagerada inmovilidad en la prueba de nado forzado en comparación con las Flinders Resistentes (FRL)⁴⁸, esta inmovilidad se contrarresta con la administración de drogas antidepresivas usadas clínicamente por lo que también se considera un modelo de depresión. En la Tabla 2 se muestran algunos de los modelos animales más utilizados para investigar el comportamiento y efecto de nuevas sustancias en la depresión⁶.

Ejemplo de modelos animales utilizados en investigación de la depresión

Modelos	Características
Nado Forzado (PNF) (Forced Swim Test)	Antidepresivos administrados agudamente incrementan el tiempo que el animal lucha o se esfuerza por escapar de una cámara con agua, la pérdida de esfuerzo se piensa representa la desesperanza ⁴⁹⁻⁵¹ .
Suspension de la cola (Tail Suspension Test)	Antidepresivos administrados agudamente incrementan el tiempo que el animal lucha o se esfuerza por escapar cuando se le suspende de la cola, la pérdida de esfuerzo se piensa representa la desesperanza ⁵² .
Desesperanza (Impotencia o indefensión aprendida) (Learned helplessness)	Animales expuestos a shocks en las patas toman un tiempo más largo para escapar o no escapan cuando son expuestos de nueva cuenta a shocks; los antidepresivos disminuyen la latencia de fuga y fracasos ⁵³ .
Estrés crónico (Chronic Mild Stress)	Animales expuestos repetidamente a varios tipos de estrés (frío, interrupción del ciclo luz-oscuridad, shocks en las patas, restricción, etc.) muestran reducida preferencia por la glucosa y comportamiento sexual; sin embargo esto ha sido difícil de replicar, en particular en ratones ⁵⁴⁻⁵⁷ .
Estrés social (Social Stress)	Animales expuestos a varios tipos de estrés social (proximidad a machos dominantes, olores de depredadores naturales) muestran anomalías conductuales; tales anomalías han sido difíciles de reproducir, en particular en ratones ³⁴ .
Estrés a edad temprana (Early life stress)	Animales separados de sus madres muestran anomalías conductuales y del eje Hipotálamo Pituitario Adrenal (HPA) que persisten en la edad adulta y el uso de antidepresivos revierten estas anomalías ⁵⁸ .
Bulbectomía olfatoria	La lesión química o quirúrgica al bulbo olfatorio causa anomalías conductuales, algunas de las cuales pueden ser revertidas con antidepresivos ^{59,60} .
Condicionamiento al miedo (Fear conditioning)	Animales previamente expuestos a señales neutras (ej. sonido) o el contacto (ej. jaula) que ha sido asociada con un estímulo aversivo (ej. Shock) muestran respuestas similares al miedo ⁶¹ .

Pruebas basadas en gratificación	Animales muestran respuestas similares al consumo de sustancias de abuso en ensayos de condicionamiento clásico y operante (ej. Preferencia al lugar condicionado, autoadministración de drogas, refuerzo condicionado y ensayos de autoestimulación intracraneal) ^{62,63}
Pruebas basadas en cognición	La capacidad de los animales para atender, aprender y recordar es medida en una variedad de circunstancias. Ej. Memoria espacial (Laberinto de Morris, Laberinto radial), memoria de trabajo (Laberinto en T), y atención (Prueba de 5 opciones seriales) ⁶⁴ .

Tabla 2. Ejemplo de modelos animales utilizados en investigación de la depresión¹⁰.

A través del tiempo se han ido generando modelos animales que cumplen con los requerimientos necesarios para darle cierto grado de validez, y que cuentan con gran relevancia en el estudio de la depresión.

Uno de los modelos de mayor interés en la detección de fármacos con actividad antidepressiva, y el que se utilizó en este trabajo, es el modelo generado por Roger Porsolt en los años setenta.

1.6 Prueba de Porsolt o de Nado Forzado (PNF)

Con la prueba de nado forzado (PNF), se han cernido una gran cantidad de drogas y los resultados apoyan la idea de que este modelo tiene un gran potencial predictivo en eficacia terapéutica⁶⁵.

Además en los últimos años este modelo se aplica a ratas que han sido manipuladas para convertirlas en alguno de los modelos animales de depresión que reproducen algunos de los síntomas de la depresión, se ha corroborado que el tiempo de inmovilidad de esta prueba está en relación directa con los niveles de depresión^{49,50,58}.

Se considera que la prueba de nado forzado es un valioso modelo animal de depresión, porque se ha demostrado que es sensible a los tratamientos antidepressivos.

Sin embargo, en la literatura que analiza la PNF han aparecido numerosos falsos positivos (anticolinérgicos, convulsionantes, anticonvulsionantes, antihistamínicos, opiáceos y anisomicina), proponiendo una interpretación alternativa de la conducta de inmovilidad; la inmovilidad es una conducta que se aprende y que constituye una respuesta adaptativa frente a la situación de natación forzada.

Muy probablemente, la acción de algunas sustancias que reducen la inmovilidad en la PNF, sobre todo cuando se lleva a cabo en dos fases, puede deberse a un efecto sobre la memoria.

El modelo de desesperación conductual (Behavioral Despair) fue propuesto como una técnica experimental capaz de diferenciar las sustancias y los tratamientos antidepresivos de otros que no lo son⁵⁰.

En 1981 pasa de ser considerado una técnica conductual de exploración de nuevos antidepresivos, a convertirse en un “nuevo modelo conductual de depresión”.

Para entender esta evolución es preciso remontarse a su origen teórico y práctico.

La idea le surgió a Porsolt, al observar la peculiar conductas de algunas ratas sometidas en una tarea de aprendizaje en un laberinto de agua que requería de 10 minutos para escapar de él: mientras que la mayoría encontraba la salida fácilmente, algunas, después de nadar intensamente durante algún tiempo sin encontrarla, encontraban una postura característica, flotando pasivamente en el agua⁶⁵. Para estas ratas, la situación parecía inescapable.

Para las fechas en que Porsolt llevaba a cabo estos experimentos, Seligman había publicado su libro Helplessness⁶⁶ en el que propone que la indefensión aprendida (IA) podría ser un buen modelo animal de la depresión humana.

Efectivamente, tanto en la PNF, como en la IA, se somete a algunos animales a una situación inescapable (en el caso de PNF no hay grupo que controle la situación aversiva inescapable), lo cual llevó a interpretar la PNF como una aversión simplificada de la IA en una situación aversiva natural para las especies estudiadas, ratas y ratones⁶⁶.

Más adelante se hará referencia a los trabajos experimentales que han tratado de contrastar esta hipótesis.

La PNF, consiste en colocar a la rata en un cilindro de vidrio lleno de agua hasta una altura de 15 cm durante 15 minutos y 24 horas después se realiza otra prueba pero ahora será de 5 minutos.

En los primeros minutos la rata presenta una actividad exploratoria donde salta, revisa las paredes, bucea explorando el fondo con la intención de escapar de tal situación.

Después de unos minutos, esta actividad cesa y la rata adopta una posición característica, donde se mantiene erguida sobre las patas traseras y la cola, recarga una o ambas extremidades anteriores en la pared del cilindro y manteniendo la cabeza levantada apenas arriba de la superficie del agua. El tiempo que dura esta inmovilidad es fácil de cuantificar.

La administración sistémica de fármacos que tienen propiedades antidepresivas (tricíclicos, atípicos, inhibidores de la monoaminoxidasa) reducen el tiempo de inmovilidad^{49,65}.

La PNF, fue diseñada en un principio como un modelo animal para el cernimiento de fármacos antidepresivos⁵⁰.

El procedimiento usado originalmente con ratas consistía en introducir las dos veces (sesiones) en un tanque cilíndrico con agua a 25°C con un intervalo entre sesiones de 24 horas⁵¹.

Se observó que después de un período de actividad vigorosa los animales adoptaban una postura de inmovilidad que consideraron, dando una interpretación antropomórfica, fruto de un «desánimo conductual⁵⁰, según la cual los animales aprendían que el escape de la situación era imposible y se resignaban a la situación experimental.

Cuando los animales experimentales eran ratones, éstos eran expuestos a una única sesión de 6 minutos de duración⁵².

En ratas, el test consistió en registrar la inmovilidad durante la segunda sesión y en ratones durante los últimos 4 minutos de la única sesión a la que eran expuestos.

La interpretación de la inmovilidad como un “desánimo conductual” fue cuestionada, la consideraron como una conducta de adaptación⁸¹ y por otros autores que interpretaron la inmovilidad observada en la PNF en ratas como una inmovilidad aprendida²¹. Recientemente, utilizando una modificación en el procedimiento tradicional usado en ratones para hacerlo similar al seguido con ratas, han demostrado que la “inmovilidad aprendida” se observa también en ratones y que están implicados procesos como la habituación y el olvido⁶⁸.

La PNF consiste en someter a los animales experimentales a una situación aversiva inescapable, aunque existen variaciones en el procedimiento según los autores, la mayoría sigue el propuesto por Porsolt⁶⁹: normalmente, cada rata es introducida individualmente en un cilindro de aproximadamente 18 cm de diámetro del que no puede salir, permaneciendo en él durante 15 minutos (1era fase). Este cilindro contiene agua a 25°C hasta un nivel de 15 cm.

Una vez transcurridos los 15 minutos, la rata es sacada y colocada en un lugar caliente antes de ser devuelta a su jaula.

A las 24 horas es introducida de nuevo en el cilindro bajo las mismas condiciones durante 5 minutos (2da fase). Las ratas nadan y bucean de forma espontánea.

Así pues, cualquier rata, al ser introducida por primera vez en el cilindro con agua, nada vigorosamente durante un tiempo, pasado el cual adopta una postura característica de inmovilidad (que puede alternar con breves secuencias de natación vigorosa) con suaves movimientos de sus patas delanteras necesarios para mantener la cabeza, o al menos el hocico fuera del agua. Así mismo, bucea y realiza sacudidas bruscas de la cabeza.

En la 2da fase, la inmovilidad tarda menos en aparecer⁶⁹. La variable dependiente se mide evaluando, generalmente por observación mediante jueces, el tiempo que la rata permanece inmóvil durante los 5 minutos de la 2da fase. Se considera que la inmovilidad es un índice de desesperación y de depresión del humor (lowered mood)⁶⁵ e inversamente la actividad como indicador del esfuerzo por escapar⁷⁰.

El hecho de que los antidepresivos disminuyen la duración de la inmovilidad en la PNF de forma aparentemente específica^{69,70}, fue lo que indujo a Porsolt a proponer esta prueba como un sistema para detectar actividad antidepresiva y por tanto, servir para descubrir nuevos tratamientos.

Esta aplicación se basa en el supuesto de que cualquier sustancia o tratamiento que actúe como los antidepresivos ya conocidos, reduzcan la duración de la inmovilidad⁷¹.

La utilidad de la PNF como sistema para detectar tratamientos antidepresivos supera a cualquier otro modelo³⁹.

Es el único modelo conductual de depresión que cuenta con un grado de correlación significativo entre la potencia relativa de los antidepresivos y la eficacia de estos, en el modelo [$r=0,58$, $p<0,05$] calculada por Willner³⁹ con los datos de Porsolt^{49,65}. Este hecho indica que los mecanismos de acción de los antidepresivos en la PNF son similares a los causantes de la mejoría de la depresión.

Los mecanismos neuroquímicos implicados en la inmovilidad, y los de la depresión humana, los mecanismos de acción de los antidepresivos en el modelo y en la depresión, en conjunto aportan información valiosa acerca de la validez de la PNF como modelo experimental de depresión, debido a la incertidumbre y controversia acerca de las bases biológicas de la depresión humana³⁹.

Este modelo cuenta con validez predictiva. Aquello que apoya la validez de apariencia, entendida como la semejanza entre los síntomas de la enfermedad y los observados en el modelo (face validity)³⁹ de la PNF, es la consideración de la conducta de inmovilidad como una manifestación conductual análoga a la pasividad de un cierto grupo de deprimidos.

La desesperación conductual, puesta de manifiesto por la inmovilidad, es un indicio de la incapacidad de mantener el esfuerzo de intentar escapar, incapacidad que constituye un síntoma central en la depresión, y que los antidepresivos revierten⁷².

Los argumentos que apoyan la validez teórica de la PNF como modelo animal de depresión, parten de la semejanza entre la PNF y la IA⁶⁵.

El propio Porsolt trató de probar esta similitud teórica sometiendo a dos grupos de ratas, uno de los cuales había sido sometido 24 horas antes a natación forzada durante 30 minutos, a una tarea de escape en un laberinto de agua (el otro grupo no sufrió ningún tratamiento previo), no aparecieron diferencias significativas entre ambos grupos, aunque

el sometido a natación forzada mostró latencias de escape mayores en valores absolutos. Tampoco encontraron diferencias en la conducta de escape frente a un choque eléctrico tras la natación forzada con y sin posibilidad de escapar⁷³.

La PNF induce mediante sometimiento a una situación aversiva inescapable una inmovilidad sintomática análoga a la pasividad depresiva (La IA pretende inducir otros síntomas similares a los de la depresión humana).

La positiva y significativa correlación entre los tratamientos antidepressivos en el modelo y en la clínica, indica una identidad relativa entre los mecanismos neurobiológicos a través de los cuales ejercen su acción en uno y otra.

Los nuevos hallazgos relativos a las bases biológicas de la depresión permiten integrar resultados obtenidos con la PNF considerados falsos positivos y falsos negativos: los anticolinérgicos tal vez pudieran tener un efecto terapéutico al corregir el supuesto desequilibrio entre procesos colinérgicos y noradrenérgicos^{74,75}; igualmente los inhibidores de la recaptación de serotonina (falsos negativos) confirmaron que la 5-HT no juega un papel directo en la depresión. La DA, influye importantemente en el estado motor del depresivo, y en modo notable en la PNF³⁹.

También se ha encontrado que los agonistas gabaérgicos ejercen un efecto inhibitor de una inmovilidad a través de vías α -adrenérgicos impidiendo que se aminore la inmovilidad con la administración de muscimol⁷⁰.

Los modelos animales de depresión han sido desarrollados con la finalidad de evaluar las acciones de los agentes antidepressivos, intentado reproducir algunas de las características clínicas de la depresión en el modelo experimental⁷⁵. Por lo que se han propuesto criterios para validar dichos modelos, basándose en las similitudes existentes entre el modelo experimental y el clínico⁷⁷, los cuales se basan en las similitudes de⁴¹:

1. La causa inductora del fenómeno.
2. El estado inducido en el sujeto.
3. Los mecanismos subyacentes al cuadro conductual.
4. Los efectos de los tratamientos que clínicamente resultan efectivos.

Estos cuatro puntos son identificados en el modelo experimental de nado forzado (Tabla 3), lo que valida como un modelo de depresión útil para evaluar las acciones de los antidepressivos y de nuevas sustancias que pudieran ser utilizadas en la farmacoterapia de la depresión⁴¹.

Similitud entre la prueba de nado forzado y algunos aspectos de la depresión clínica que validan al modelo experimental para el estudio de las acciones de los antidepresivos

Observación experimental	Observación clínica
El estado de desesperanza inducido por la PNF en los animales es desencadenado por el factor estresante que implica la prueba ⁴⁹ .	En la clínica se ha detectado que el estrés es uno de los factores que predisponen al individuo a presentar desórdenes de ansiedad y/o depresión ¹⁰ .
La desesperanza inducida por la PNF promueve en el animal abatimiento motor y falta de motivación ^{49,51} .	En el paciente deprimido un síntoma característico es el abatimiento psicomotor y la falta de motivación.
El nado forzado ejerce cambios neuroquímicos y fisiológicos en estructuras límbicas como el septum, la amígdala, el hipotálamo y la corteza cerebral ^{78,79} .	En la fisiopatología de la depresión participan estructuras del sistema límbico como el septum, el hipotálamo, la amígdala, así como áreas corticales ⁸³ .
Los antidepresivos efectivos clínicamente como los tricíclicos y los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina bloquean el efecto inducido por el nado forzado, es decir, disminuyen la inmovilidad ^{49,51,81,82} .	Los antidepresivos efectivos clínicamente como los tricíclicos y los inhibidores de la recaptura de serotonina son de los fármacos más utilizados en el manejo exitoso de la depresión ⁸⁴ .

Tabla 3. Similitud entre la prueba de nado forzado y algunos aspectos de la depresión clínica que validan al modelo experimental para el estudio de las acciones de los antidepresivos⁴¹.

En los animales sometidos a la PNF se ha detectado la activación metabólica de diversas estructuras cerebrales que clínicamente están identificadas como participantes en la fisiopatología de la depresión⁸³.

Estos cambios pudieran ser la base neurobiológica de la inmovilidad como respuesta ante la situación estresante que representa el nado forzado.

Es posible que los antidepresivos al interactuar con los diferentes sistemas de neurotransmisión restablezcan esos cambios en la fisiología cerebral dando como resultado la disminución de la inmovilidad, lo cual es interpretado como un aumento de la motivación del animal por enfrentar la situación que representa la prueba de nado forzado⁴⁷. Por lo que la PNF es un modelo conductual útil para predecir las acciones de los antidepresivos y explorar los sistemas de neurotransmisión involucrados en las acciones farmacológicas de estas sustancias. La evidencia de que los antidepresivos efectivos clínicamente disminuyen la inmovilidad ha permitido predecir posibles acciones antidepresivas de nuevas sustancias, es lo que valida a la PNF como un modelo predictivo eficaz para el estudio de las acciones

de los antidepresivos y quizá para formular nuevas hipótesis sobre las bases neurobiológicas que subyacen a algunos de los sistemas de la depresión⁴⁷.

La conducta de inmovilidad presentada en los animales forzados a nadar también ha sido interpretada como una conducta adaptativa que le permite al animal conservar su capacidad energética ante la situación de apremio que representa la prueba, más que como un indicador de desesperanza^{85,86}.

De esta manera, se supone que esta conducta es “aprendida” durante la sesión de prueba, la inmovilidad disminuye en los animales tratados con antidepresivos pero no en los animales control⁶⁹.

Se ha sugerido que la disminución de la inmovilidad provocada por los antidepresivos podría ser el resultado de un incremento de la actividad motora general del animal.

Sin embargo, la actividad motora de los animales se incrementa solo con sustancias que son estimulantes del sistema nervioso central como las anfetaminas, pero no con los fármacos antidepresivos⁸⁵.

En contraparte, los depresores del sistema nervioso disminuyen la actividad locomotora e incrementan la inmovilidad durante la prueba de nado forzado⁴⁹. Por lo que se considera un buen antidepresivo aquel que disminuye la inmovilidad en el nado forzado, sin modificar la actividad locomotora del animal.

1.7 Tratamiento

En el tratamiento de la depresión se toman en cuenta los aspectos psicosociales y se determinan los factores que pueden causar estrés, como las dificultades económicas, los problemas en el trabajo y el maltrato físico o psicológico, así como las fuentes de apoyo, como los familiares y amigos.

El mantenimiento o la recuperación de las redes y las actividades sociales son también importantes⁴.

Entre los tratamientos psicosociales efectivos para los casos de depresión leve se tienen: La activación conductual, la terapia cognitiva conductual, la psicoterapia interpersonal y la terapia electroconvulsiva, recientemente reemplazada por la estimulación magnética transcraneal (EMT), una alternativa menos invasiva, menos estresante para los pacientes y que parece no producir efectos colaterales³⁵.

En casos de depresión más severos (de hecho también en algunos leves) se utilizan tratamientos clásicos con medicamentos antidepresivos, pueden tardar de 6 a 8 semanas en ejercer su efecto terapéutico completo, y se clasifican de acuerdo con su mecanismo de acción^{87,88}:

Antidepresivos tricíclicos (ATC) y otros inhibidores de la recaptura de la noreadrenalina:

El efecto farmacológico de los ATC incluye acciones complejas, secundarias a su acción inhibitoria del transporte neuronal de NA y/o del bloqueo variable del transporte de 5-HT, en las respectivas sinapsis centrales y periféricas, esto incrementa los niveles de aminas circulantes en el SNC.

Los ATC con aminas secundarias en la cadena lateral o los metabolitos N-desmetilados de fármacos con aminas terciarias por ejemplo: imipramina (Tofranil), amitriptilina (Elavil), desipramina (Norpramin), nortriptilina (Pamelor), clomipramina, norclomipramina, amoxapina, maprotilina, nordoxepin, dotiepinga, dosulepinga, doxepina, lofepramina, trimipramina, mianserina, trazodona. Son inhibidores relativamente selectivos del transporte de NA y otros ATC con aminas terciarias también inhiben la recaptura de 5-HT⁸⁸.

Inhibidores de la monoaminoxidasa: Las Monoamino-oxidasas son dos enzimas estructuralmente relacionadas que contienen flavina.

Se localizan en la membrana mitocondrial, dentro del SNC. La MAO-A se expresa en las neuronas noradrenérgicas, mientras que la MAO-B se en las neuronas serotoninérgicas o histaminérgicas. La actividad de la MAO está estrechamente relacionada a su función con una aldehído reductasa y una aldehído deshidrogenasa dependiente del sustrato.

La MAO regula la degradación metabólica de las catecolaminas y otras aminas endógenas en el SNC y tejidos periféricos. La inhibición de este sistema enzimático por los inhibidores de la MAO (IMAO) causa una reducción en el metabolismo y un subsecuente aumento en la concentración de las aminas biogénicas.

La MAO-A preferentemente desamina adrenalina (A), NA y 5-HT y es selectivamente inhibida por clorgilina, mientras que la MAO-B metaboliza fenetilamina y es inhibida por la selegilina.

La DA y la tiramina son metabolizadas tanto por ambas isoenzimas MAO y ambos tipos son inhibidos por fenelzina, tranilcipromina e isocarboxazida.

Los inhibidores selectivos de MAO-A son más efectivos en tratar la depresión mayor que los inhibidores del tipo B.

Los inhibidores de la MAO-B, selegilina están aprobados para el tratamiento en el inicio de la enfermedad de Parkinson y actúa potenciando la DA residual en las neuronas nigroestriatales degeneradas y posiblemente por reducción del daño neuronal debido a los productos reactivos del metabolismo oxidativo de DA u otras neurotoxinas potenciales.

Varios inhibidores selectivos de corta duración de la MAO-A (brofaromina y moclobemida) y toloxatona tienen un efecto antidepresivo moderado y son utilizados para potenciar la

acción presora de tiramina y otros aminas simpaticomiméticas de acción indirecta que son IMAO irreversibles y no selectivos⁸⁸.

Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS): Son fármacos de primera línea en el tratamiento del trastorno depresivo mayor, trastorno disfórico premenstrual, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de estrés postraumático, trastorno de ansiedad generalizada y social (fobia social).

En la actualidad se encuentran disponibles en México seis antidepresivos ISRS: fluoxetina (Prozac), citalopram (Celexa), paroxetina (Paxil), fluvoxamina (Luvox), sertralina (Zoloft) y escitalopram.

Su mecanismo de acción consiste en inhibir o bloquear con alta especificidad la recaptura de serotonina⁸⁹, lo que es suficiente para producir sus efectos antidepresivos y menos efectos secundarios que los ATC en general²³.

Cada uno de los antidepresivos pertenecientes a este grupo tiene un perfil ligeramente diferente con actividad clínica y efectos secundarios distintos e interacciones farmacológicas particulares. Estos antidepresivos tienen en común su seguridad, inclusive en sobredosis, y que pueden administrarse desde el principio a dosis terapéuticas⁸⁸.

Antidepresivos duales: Son aquellos que cuentan con acciones farmacológicas duales, es decir que cuentan con una doble función en base a los mecanismos de acción anteriormente mencionados en la clasificación. Por lo que pueden inhibir la recaptura de NA y 5HT, o bloquear la recaptura de NA y DA. Por ejemplo: Venlafaxina, bupropión (Anfebutamona), mirtazapina, duloxetina, milnacipran y reboxetina⁸⁸.

Para la elección del tratamiento antidepresivo más eficaz y seguro es importante ubicar los signos y síntomas presentes en el paciente, y clasificar el subtipo del trastorno depresivo en base a la DSM-V.

Todos los medicamentos son efectivos a corto plazo, sin embargo difieren en cuanto a mecanismo de acción, farmacocinética y farmacodinamia, por lo que difieren en su eficacia, tolerabilidad y seguridad dependiendo del tiempo en que se lleve el tratamiento, por lo que podrían llegar a producir efectos adversos en el paciente. La eficacia de los medicamentos antidepresivos se ha demostrado mediante ensayos clínicos en sujetos con depresión moderada a grave⁸⁷.

Existen otro tipo de tratamientos que son alternativos a los medicamentos clásicos, los cuales disminuyen los síntomas de la depresión, entre los cuales tenemos los de reemplazo o administración hormonal, estrógenos en mujeres, y andrógenos en los varones. Y el tratamiento con nicotina que también disminuye los síntomas y signos de la depresión; se hablará de estos tratamientos con más detalle en los siguientes capítulos.

En los casos de depresión leve se opta mayormente por terapia psicológica, como anteriormente se menciona, ya que un tratamiento clásico con medicamentos podría causar efectos adversos, por lo que se debe realizar una valoración costo-beneficio, para poder brindarle al paciente el mejor tratamiento antidepresivo.

CAPÍTULO 2. LA NICOTINA COMO ANTIDEPRESIVO

2.1 Acetilcolina

La actividad farmacológica de la acetilcolina (ACh) fue descubierta al estudiar las glándulas suprarrenales en la década de los años 30's del siglo pasado. Se encuentra presente dentro del sistema nervioso periférico (SNP) y central (SNC) de invertebrados y vertebrados^{90,91}. Fue el primer neurotransmisor que se descubrió y se le llamó acetilcolina porque su estructura química consta de una unión éter entre un ácido acético y una colina (Figura 1).

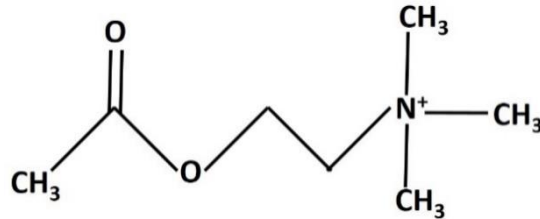


Figura 1. Estructura química de la acetilcolina.

2.1.1 Síntesis y liberación de la acetilcolina

La acetilcolina (ACh) se sintetiza por la acción de la enzima acetilcolintransferasa (CAT), que une la acetil-coenzima A (CoA) con el sustrato colina y da lugar a la formación de ACh. De manera contraria, la acetilcolinesterasa (AChE), es la enzima que degrada a la ACh en el espacio sináptico, formando acetato y colina.

La concentración normal de colina en la sangre es de aproximadamente 10 $\mu\text{mol/L}$, pero aumenta a 1 mmol/L en la proximidad inmediata de las terminaciones nerviosas colinérgicas; una vez que se hidroliza la ACh liberada.

La colina se recaptura al interior celular, y el acetato es liberado para ser un precursor propio de la síntesis de ACh. Normalmente se recaptura más del 50% de la colina. La colina libre en el interior de la terminación nerviosa es acetilada por la CAT, que transfiere el grupo acetilo de la acetil-CoA (Figura 2).

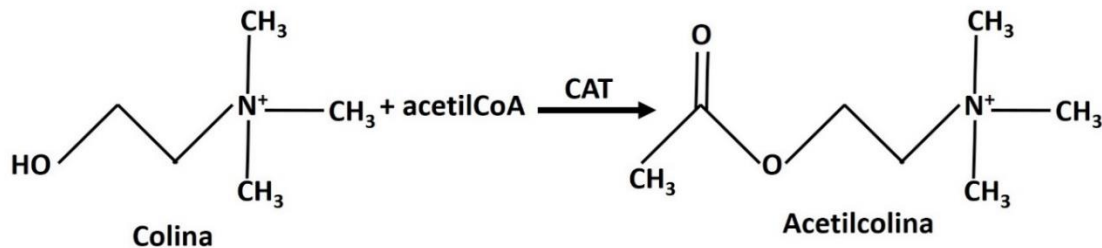


Figura 2. Síntesis de acetilcolina.

El proceso limitante en la síntesis de ACh es el transporte de colina, cuya actividad está regulada por la velocidad a la que se libera.

En las terminaciones nerviosas presinápticas se encuentra la colinesterasa, de modo que la ACh se hidroliza y sintetiza continuamente. Si se inhibe la colinesterasa de las terminaciones nerviosas, se acumula en el citosol un excedente de ACh, que no puede ser liberado por impulsos nerviosos.

La mayor parte de ACh sintetizada es empaquetada en vesículas presinápticas, alcanzando una concentración de 100 mmol/L, y donde se libera por exocitosis inducida por la entrada de Ca^{2+} en la terminación nerviosa. Las vesículas colinérgicas acumulan ACh activamente por medio de su transportador, la acumulación de ACh tiene relación con el gradiente electroquímico para H^+ que existe entre los organelos y el citosol. Tras su liberación, la ACh se difunde a través de la hendidura sináptica y se combina con sus receptores presentes en la célula postsináptica (Figura 3)^{90,91}.

Sus receptores membranales, cuya función principal es la transducción de señales, se dividen en 2 tipos: nicotínicos y muscarínicos. Los receptores nicotínicos son ionotrópicos, es decir, regulan la apertura de canales iónicos. El segundo tipo de receptor, el receptor muscarínico, interactúa con proteínas unidas a nucleótidos de guanina (proteína G).

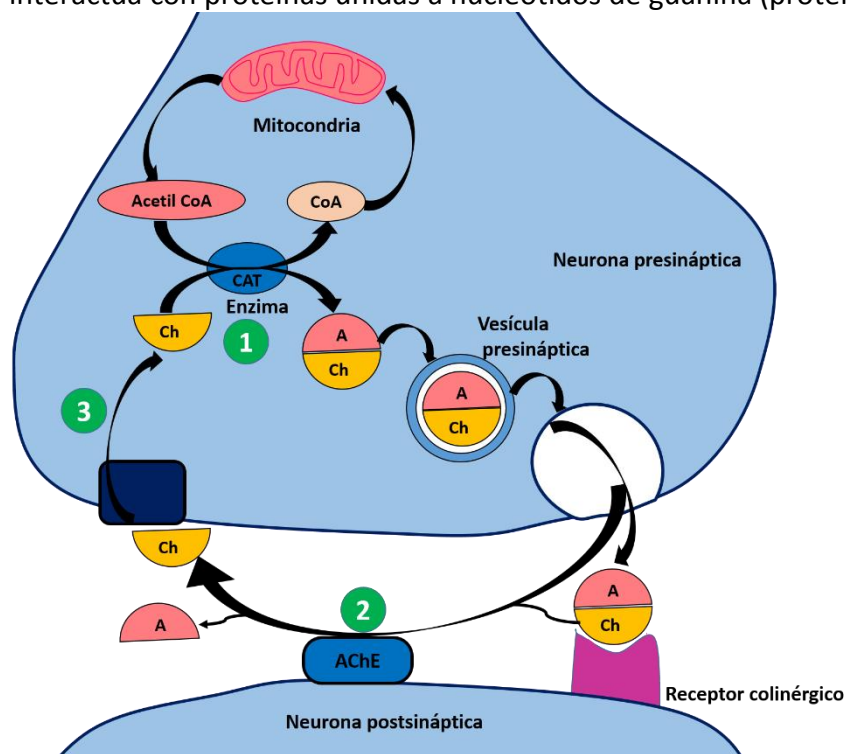


Figura 3. Esquema que representa la sinapsis colinérgica. En 1, se muestra como es sintetizada la acetilcolina (ACh) a partir de colina (Ch) y acetil coenzima-A (CoA) por la enzima acetilcolintransferasa (CAT). En el 2, se muestra en la hendidura sináptica que la ACh es rápidamente hidrolizada por la enzima acetilcolinesterasa (AChE). Y en el 3, la Ch es transportada de regreso dentro del axón terminal de la neurona presináptica y es utilizada para sintetizar más ACh.

2.1.2 Localización

La importancia de conocer la localización y distribución de los receptores de ACh en el cerebro provee información para el potencial terapéutico con el que cuentan los fármacos antidepresivos.

Existen numerosas regiones del cerebro con una gran densidad de receptores colinérgicos^{91,92}, en la tabla 4 se muestran las principales áreas del cerebro que contienen algunas de las subunidades del receptor nicotínico para la acetilcolina (nAChR)⁹³, y en la tabla 5 se muestran las principales regiones cerebrales donde se encuentran los 5 subtipos de receptores muscarínicos.

Principales regiones del cerebro que contienen nAChR

Región	Densidad de receptores nACh
Amígdala	+
Área tegmen tal ventral	++++
Cerebelo	++
Colículos inferiores	+
Corteza cerebral	++
Estriado	++
Formación reticular tronco encefálica	++
Giro dentado	++
Habénula medial	+++
Hipocampo	+
Hipotálamo	+
<i>Locus coeruleus</i>	++
Medula espinal	+
Núcleo del rafe	+
Núcleo interpedicular	++++
Sustancia negra	++++
Tálamo	++

Densidad de receptores nACh: +, baja; ++, moderada; +++, alta; +++++, máxima.

Tabla 4. Principales regiones del cerebro que contienen algunas de las subunidades del receptor nicotínico para la acetilcolina (nAChR). Modificado de Chamizo A., 2005⁹³.

Los receptores acoplados con proteínas G, entre los que se encuentran los muscarínicos, pueden ejercer gran variedad de funciones dependiendo de la proteína G a la que se encuentren acoplados, que incluyen respuestas rápidas o lentas, con activación o inhibición de diversas vías de mensajeros intracelulares o segundos mensajeros.

Las cuatro vías principales están mediadas por adenilato monofosfato cíclico (AMPC), guanosín monofosfato cíclico (GMPc), iones Ca²⁺ y por productos de la hidrólisis de fosfato de fosfotidilinositol. Más adelante se describirán detalladamente los receptores de acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico.

Distribución de las subunidades de tipo muscarínico (mAChR)

Especie	M1	M2	M3	M4	M5
Distribución	Corteza cerebral, ganglios basales, tubérculo olfativo, cerebro medio e hipocampo.	Cerebro, tronco del encéfalo, hipocampo, cerebro medio, tubérculo olfativo, corazón y músculo liso.	Hipocampo, corteza cerebral estriado y estructuras talámicas.	Estriado, tubérculo olfativo, corteza cerebral, hipocampo y pulmón.	Cuerpo estriado, hipocampo y corteza cerebral.

Tabla 5. Distribución de las subunidades del receptor de acetilcolina, de tipo muscarínico. Modificado de Soto M. E., 2005⁹¹.

2.1.3 Función

En el cerebro de los mamíferos, el efecto fisiológico más importante de la ACh es una reducción de la permeabilidad al K⁺, de tal forma que estas neuronas son más susceptibles a otras influencias excitatorias⁹¹.

Su participación en funciones fisiológicas, y su carácter de neurotransmisor (NT) en la unión neuromuscular, ha propiciado la aparición de una farmacología bastante extensa, destinada a bloquear o aumentar la actividad colinérgica en la periferia; sin embargo, existen pocos fármacos con acción selectiva para los sistemas colinérgicos cerebrales, tal como: agonistas y antagonistas (muscarínicos y nicotínicos), liberadores de ACh, inhibidores de la liberación de ACh, ligados irreversibles, inhibidor del transportador, y de la síntesis de ACh, inhibidor de CAT⁹¹.

Todas las regiones de la corteza cerebral están inervadas por ACh, por lo que la función cortical está fuertemente influida por ella. Gracias a esto, participa en la regulación de diversas funciones como fenómenos de activación cortical^{91,94}, modulación del sueño de MOR⁹⁵⁻⁹⁷, actividad motora⁹⁸, procesos de memoria y aprendizaje⁹⁴.

2.1.4 Propiedades farmacológicas de la ACh

En 1914, Dale distinguió dos tipos de actividad que denominó muscarínica y nicotínica. Las acciones nicotínicas de la ACh son aquellas que pueden reproducirse inyectando muscarina, el principio activo de la seta venenosa *Amanita muscaria*, y que pueden neutralizarse con pequeñas dosis de atropina, un antagonista general de los receptores colinérgicos.

Las acciones muscarínicas corresponden a las de la ACh liberada por las terminaciones parasimpáticas postganglionares, es decir, estimula todos los ganglios autónomos, y estimula la contracción de los músculos voluntarios. También promueve respuestas como la disminución de la frecuencia cardíaca, broncoconstricción, motilidad y secreción digestiva, y constricción pupilar.

A pesar de ello cuenta con excepciones destacadas, como cuando la ACh produce una vasodilatación generalizada, aun cuando la mayoría de los vasos sanguíneos carecen de

inervación parasimpática, este es un efecto indirecto sobre las células del endotelio vascular al liberarse óxido nítrico (NO), que relaja el músculo liso. Estimula la secreción de las glándulas sudoríparas, que están inervadas por fibras colinérgicas del sistema simpático de las células secretoras de la médula suprarrenal.

Pequeñas y medianas dosis de ACh produce un descenso pasajero de la presión arterial debido a una vasodilatación arterial y una ralentización del corazón, efectos muscarínicos que anula la atropina. Una dosis superior de ACh administrada tras la atropina produce efectos nicotínicos: un ascenso inicial de la presión arterial por la estimulación de los ganglios simpáticos y la consiguiente vasoconstricción y un descenso de presión arterial secundario como consecuencia de la secreción de adrenalina⁹⁰.

2.1.5 Receptores

Como anteriormente se mencionó, existen dos tipos de actividad colinérgica: la muscarínica y la nicotínica, basados en la actividad de los alcaloides agonistas naturales muscarina y nicotina. Los receptores de membrana para ACh forman parte de una gran familia de canales iónicos que incluyen al receptor gabaérgico GABA (ácido γ -aminobutírico); al serotoninérgico 5-HT₃ y a los receptores colinérgicos. Su función principal es la transducción de señales, y gracias a técnicas de clonación molecular se han identificado dos tipos de receptores.

Aquellos que permiten la apertura de canales iónicos, como los GABA_A y los de glicina, que poseen un sitio de unión para el NT y contiene el canal iónico responsable de transmitir la señal hacia el interior de la célula, llamados ionotrópicos (nicotínicos). Y todos aquellos que interactúan con proteínas unidas a nucleótidos de guanina (proteína G), conocidos como metabotrópicos (muscarínicos)⁹⁰.

Los receptores de acetilcolina se encuentran ampliamente distribuidos en diversas áreas del SNC y del SNP, en donde cada uno de ellos presenta un patrón de expresión temporal y espacial particular, los cuales pueden sobreponerse durante el desarrollo y son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la ACh.

2.1.5.1 Receptores muscarínicos

Los receptores muscarínicos (mAChR) son receptores acoplados a proteínas G; se han caracterizado cinco subtipos moleculares (M₁-M₅).

Los miembros impares del grupo (M₁, M₃ y M₅) se acoplan a la proteína G_q para activar la vía de fosfolipasa C y aumentar las concentraciones de inositol trifosfato y diacilglicerol.

Los receptores M₁ se suelen localizar en el SNC, en neuronas periféricas y en células parietales gástricas. Intervienen en efectos excitadores, como la excitación muscarínica lenta mediada por la ACh en los ganglios simpáticos y las neuronas centrales. Esta excitación se debe a una reducción de la conductancia de K⁺, que despolariza la membrana. La

deficiencia cerebral de este tipo de efecto mediado por la ACh podría estar relacionada por la demencia.

Por otro lado, los receptores muscarínicos pares (M_2 y M_4), actúan a través de proteínas G_i , es decir, inhiben a la adenilato ciclase por lo que reducen las concentraciones intracelulares de AMPc, son inhibitorios. Estos receptores se han descrito exclusivamente en el SNC, pero no se conocen del todo su actividad funcional⁹⁹.

2.1.5.2 Receptores nicotínicos

Las bases moleculares de los efectos fisiológicos y conductuales de la nicotina se descubrieron en 1980, cuando se encontró que la nicotina se une a los receptores nicotínicos de la ACh, y existen con varios subtipos de estos, con estructuras y características particulares. Los receptores colinérgicos nicotínicos (nAChRs) son proteínas transmembranales que participan en dar respuesta rápida a la ACh¹⁰⁰.

Los nAChRs son receptores heterólogos pentaméricos (cuentan con 5 subunidades en su estructura) ionotrópicos (Na^+ y Ca^{2+}), con un peso molecular de aproximadamente 300 kDa, y tienen la más alta afinidad a la nicotina⁸⁶.

Las cinco subunidades están organizadas de tal manera que forman un canal catiónico central (homo o hetero pentámeros). Asimismo contienen dos o cinco sitios de unión para el ligando endógeno.

Los receptores musculares se localizan exclusivamente en la unión neuromuscular esquelética.

A nivel periférico se han identificado receptores colinérgicos nicotínicos pre¹⁰² y post ganglionares (simpáticos y parasimpáticos)¹⁰³, presinápticamente la mayoría se encuentra en el SNC y tienen función moduladora en la neurotransmisión de DA¹⁰⁴, GABA¹⁰⁵, glutamato¹⁰⁶, 5-HT¹⁰⁷, noradrenalina y péptidos opioides¹⁰⁸; y postsinápticamente¹⁰⁹ en el SNA y modulan la liberación de NT y los potenciales ganglionares. Los efectos importantes de la nicotina sobre el SNC (cerebro), médula espinal y SNA son mediados por receptores colinérgicos nicotínicos.

2.1.5.2.1 Estructura y mecanismo de acción

Cuando la acetilcolina o la nicotina se une a alguno de los sitios de unión del receptor nicotínico, produce un cambio estructural de las subunidades que lo conforman, y el canal iónico de aproximadamente 2 nm se abre por unos milisegundos, aumentando la conductancia a cationes sodio, potasio o calcio, a través de la membrana. Lo que permite el flujo de iones y la liberación de neurotransmisores (Figura 4), durante este evento el receptor se desensibiliza³².

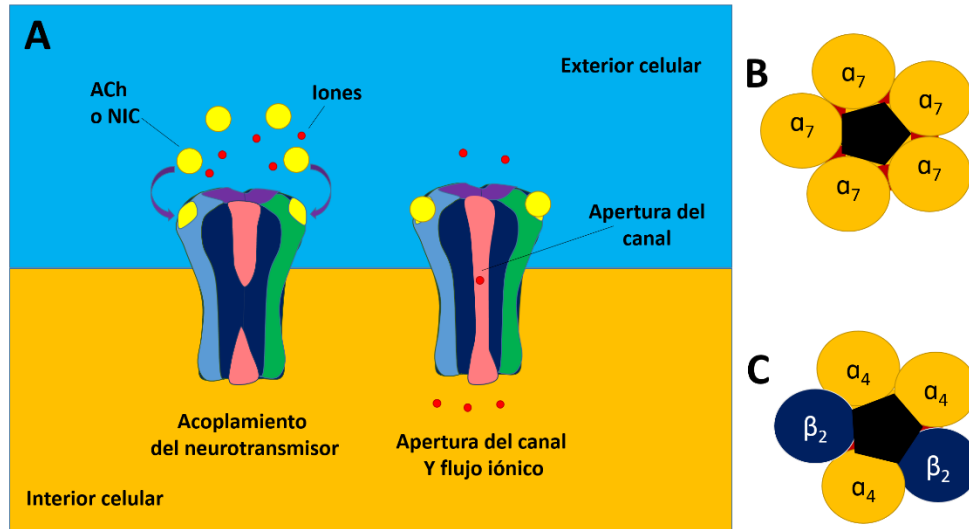


Figura 4. Esquema de un receptor nicotínico. El panel **A** muestra el mecanismo de acción del receptor ionotrópico nicotínico ante el acoplamiento de nicotina o de acetilcolina. En el panel **B** se muestra un esquema de un receptor nicotínico homopentamérico (α_7) con cinco sitios de unión para acetilcolina o nicotina. En el panel **C** se ilustra un receptor heteropentamérico ($\alpha_4\beta_2$) con dos sitios de unión. Las estrellas señalan los sitios de unión. Tomado de Vieyra-Reyes P., et al., 2009³².

En el SNC estas subunidades son denominadas α o β de acuerdo a la presencia o no de dos cisteínas en el sitio de unión para acetilcolina. Las subunidades α contienen residuos de cisteína que son importantes para la unión de la acetilcolina y de la nicotina C164-C26, marcados en la figura 4 de amarillo³². También existe una subunidad denominada γ , y se presenta únicamente en el receptor nicotínico muscular. A su vez, cada una de las tres subunidades mencionadas está formada por cuatro dominios transmembranales (denominados como $TM_1 - TM_4$).

En la figura 4, se representa un esquema del ensamblaje del pentámero de subunidades, así como la composición de los homo o hetero pentámeros. En el SNC de mamíferos, se han identificado nueve subunidades ($\alpha_2 - \alpha_7$ y $\beta_2 - \beta_4$), mientras que la subunidad α_9 está presente en las terminaciones nerviosas sensoriales^{32,109}. La activación del receptor $\alpha_4\beta_2$ es el que se ha asociado a la presencia de depresión y conductas adictivas, como al consumo de tabaco, mientras que los subtipos α_6 y β_3 regulan la liberación de dopamina, que podrían mediar las conductas adictivas.

La nicotina se une como agonista con diferente afinidad a cada uno de los subtipos; excepto con los subtipos α_9 y α_{10} , con los cuales se comporta como antagonista.

En los subtipos de receptores nicotínicos α_2 , α_3 , α_4 , α_7 y α_8 , la nicotina se une con mayor afinidad que la acetilcolina. El subtipo α_7 exhibe baja afinidad por la acetilcolina y nicotina, se desensibiliza rápido y están involucrados en respuestas sinápticas, mientras que el $\alpha_4\beta_2$ posee una alta afinidad por la acetilcolina y la nicotina¹¹⁰, se desensibilizan lentamente y se postula participan en la transmisión tipo paracrina¹¹¹.

Un tercer grupo de receptores nicotínicos estaría representado por los receptores nicotínicos a nivel de la unión neuromuscular (Figura 5)¹¹². En cuanto a las propiedades electrofisiológicas y farmacológicas de los diferentes subtipos de receptores nicotínicos incluyen: una alta permeabilidad al calcio, desensibilización rápida y de larga duración y una mayor expresión de receptores cuando hay exposición crónica al agonista¹¹³.

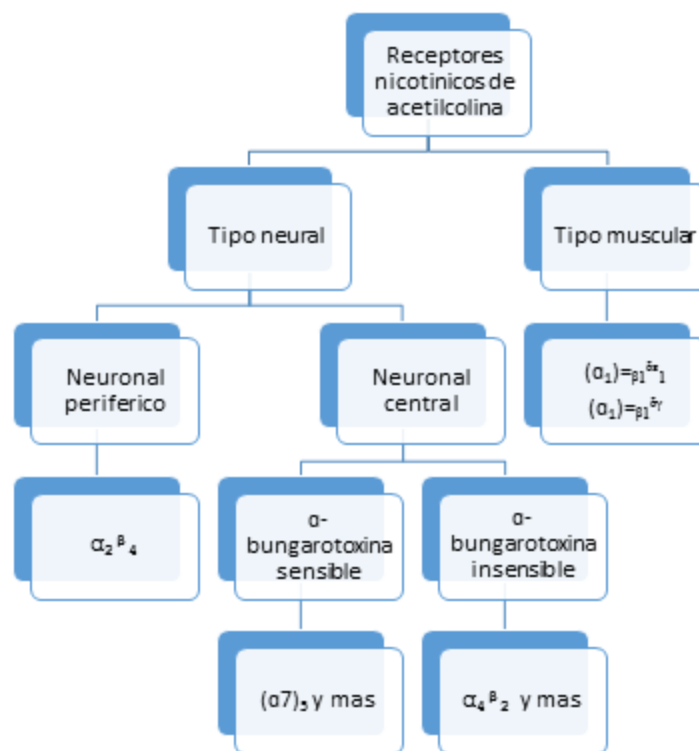


Figura 5. Tipos de receptores nicotínicos. Modificado de Farmacología: Texto y atlas. Lullman, 2009¹¹².

2.1.5.2.2 Agonistas y antagonistas

Algunos de los fármacos colinérgicos que se emplean con mayor frecuencia para caracterizar a los receptores nicotínicos son¹¹⁰:

Agonistas: Suberildicolina, epibatidina, dimetilfenilpiperazinio, citisina, anatozina-α y dimetilaminocinamilidina-anabaseina.

Antagonistas: α-conotoxina, pancuronio, metil-licaconitina, estricnina, muscarina y α-bungarotoxina, esta última es un antagonista irreversible de los receptores nicotínicos que bloquea con alta afinidad a los subtipos α₁, de la placa neuromuscular, y a los subtipos α₇, α₈, α₉ y α₁₀¹¹¹.

2.2 Nicotina

La nicotina es el principal agente psicoactivo que se ha encontrado en el tabaco, el cual es responsable de los efectos fisiológicos causantes de la adicción¹¹⁴.

La nicotina es una amina terciaria compuesta de un anillo de piridina y otro de pirrolidina (Figura 6). Es un líquido oleoso, higroscópico e incoloro que, al contacto con el aire, puede tornarse amarillento, miscible con el agua y su densidad es de 1.01 g/ml sus puntos de fusión y ebullición son de -79 °C (-110 °F) y 186 °C (477 °F).

Debido a sus propiedades de compuesto básico nitrogenado, al reaccionar con ácidos forma sales que son sólidas y solubles en agua. En la naturaleza predomina la presencia del isómero levorrotatorio ($[\alpha]_D = -166.4^\circ$); mientras que el isómero dextrorrotatorio sólo posee la mitad de la actividad fisiológica¹¹⁵.

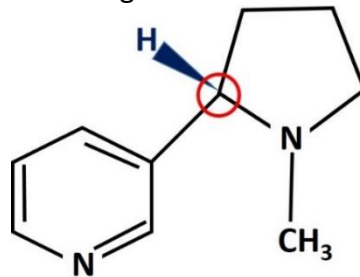


Figura 6. Estructura de la nicotina ((S)-3-(1-metilpirrolidin-2-il) piridina).

La nicotina fue aislada por primera vez en 1828 de la planta de tabaco (*Nicotiana tabacum*), por los estudiantes de química alemanes Wilhelm Heinrich Posselt y Karl Ludwig Reimann de la Universidad de Heidelberg.

La fórmula empírica fue establecida en 1872, como $C_{10}H_{14}N_2$, el peso molecular fue descrito hasta 1876 con el valor de 162.26 g/mol, pero no fue hasta 1885, cuando la explicación de la estructura química la completó Adolf Pinner. El nombre químico de la nicotina es (S)-3-(1-metilpirrolidin-2-il) piridina.

En 1904, se realizó la primera síntesis de nicotina en el laboratorio lo hicieron Pictet y Crepieux¹¹⁵.

2.2.1 Propiedades farmacológicas de la nicotina

La nicotina interactúa estereoespecíficamente con los receptores colinérgicos de tipo nicotínico que se encuentran en los ganglios autonómicos, en el encéfalo, medula espinal, medula de la glándula suprarrenal y en la placa neuromuscular (Figura 7)¹¹⁵. Aumenta la actividad colinérgica y adrenérgica provocando vasoconstricción y disminución de la frecuencia cardíaca¹⁰³. Los tres efectos característicos de la acetilcolina que mimetiza la nicotina incluyen al temblor muscular, las convulsiones y la muerte por parálisis respiratoria.

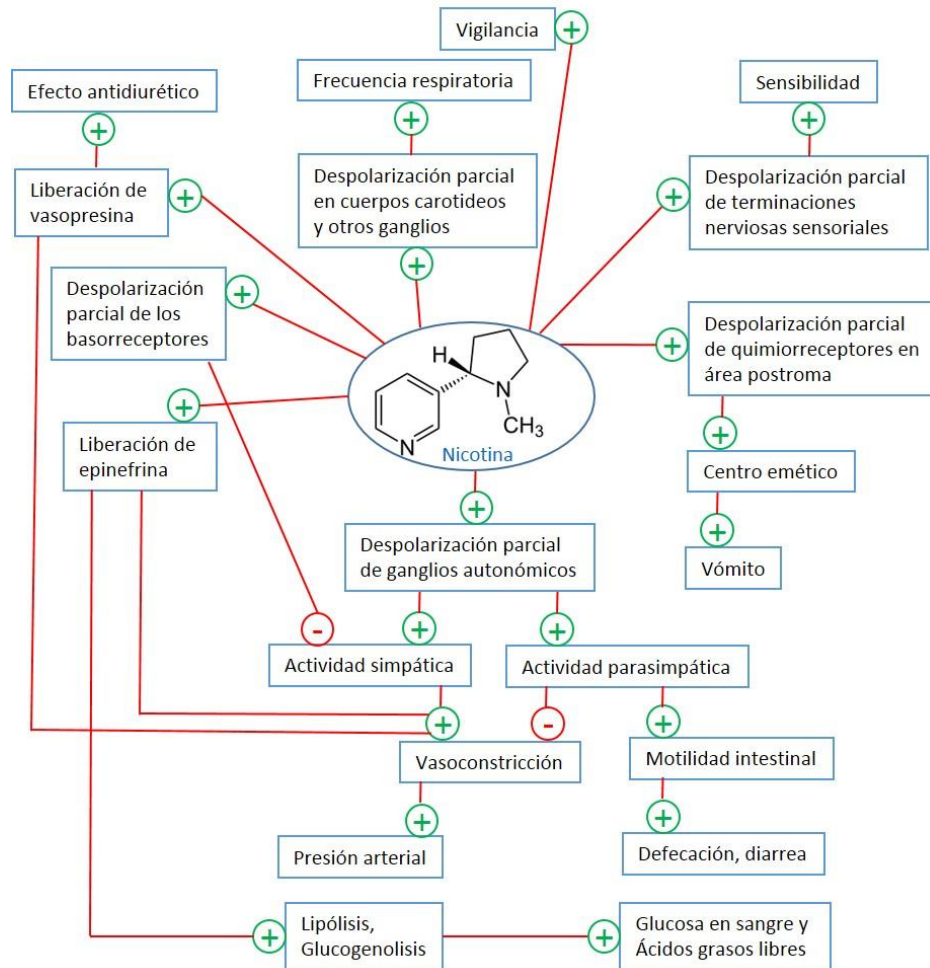


Figura de la sobre el

7. Efecto nicotina

organismo. Modificado de Ramos G., 2014¹¹⁵.

La nicotina también tiene la capacidad de activar a los receptores nicotínicos presinápticos que se encuentran en neuronas no colinérgicas; lo que ocasiona la liberación de norepinefrina, dopamina, serotonina, vasopresina, hormona de crecimiento y hormona adrenocorticotrófica.

La activación de los quimiorreceptores en los cuerpos carotídeos y en los pulmones parece contribuir importantemente a los efectos de la nicotina sobre el SNC¹¹⁶; en este sistema la nicotina ejerce sus efectos sobre los cuerpos celulares de las neuronas dopaminérgicas del área ventral tegmental (AVT) produciendo incremento de la liberación de DA en el NAcc¹¹⁴.

Existen neurotransmisores que ejercen un papel neuromodulador; hay interneuronas gabaérgicas que ejercen efecto inhibitorio tónico sobre el AVT disminuyendo la liberación de DA en el NAcc.

Los opioides, la nicotina y el alcohol bloquean el efecto del GABA y se facilita la liberación de DA en el NAcc¹¹⁷, y son los cuerpos celulares en la AVT los que promueven su liberación.

En el espacio presináptico se recaptura la DA para cesar la estimulación de receptores dopaminérgicos que regulan el recompensamiento. De hecho, la cocaína y anfetaminas bloquean la recaptura, por lo que la estimulación dopaminérgica se mantiene más tiempo¹¹⁸.

Desde el punto de vista neurofisiológico, el potencial adictivo de la nicotina altera distintos mecanismos en SNC afectando los niveles de ansiedad, recompensa, cognición y la conducta alimenticia.

La tolerancia a la mayor parte de los efectos agudos de la nicotina se desarrolla rápidamente; por lo que la dependencia psicológica y fisiológica que va de la mano con la dependencia física aparecen dentro de las primeras 24 horas, surgen más síntomas durante las próximas 24 horas y declinan después de tres o cuatro semanas.

Cuando se suspende tajantemente el consumo de nicotina, el síndrome de abstinencia produce irritabilidad, insomnio, depresión, dificultad para concentrarse¹¹⁹, ansiedad, hostilidad, impaciencia, inquietud, búsqueda de tabaco e incremento de apetito que trae como consecuencia el aumento de peso corporal y depresión. El tabaquismo puede entonces modificar los niveles de serotonina en fumadores crónicos¹²⁰.

En modelos experimentales in vitro e in vivo, se ha demostrado que la nicotina despliega un patrón de respuesta bifásico: en dosis bajas y en las primeras administraciones, se comporta como agonista; con la administración repetida y/o dosis elevadas, la nicotina despliega efectos de antagonista colinérgico.

En la figura 8, se ilustra el efecto de la dosis baja (panel central) y alta (panel inferior) de nicotina sobre la frecuencia de descarga en la segunda neurona ganglionar. En el panel superior se muestra el efecto de dosis equimolares de ACh^{112,115}.

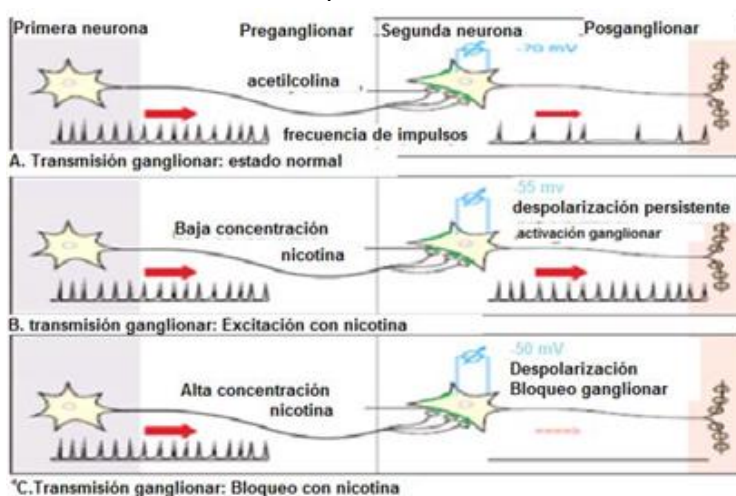


Figura 8. El bloqueo de la transmisión ganglionar con dosis elevadas de nicotina se muestra en el panel inferior. Tomado de Ramos G., 2014¹¹⁵.

Aunque hay evidencia de que la nicotina provoca efectos adversos sobre el SNC; también hay que mencionar que se han realizado investigaciones para determinar los posibles usos terapéuticos de los cambios en la neurotransmisión provocados por la nicotina. Los nAChRs en el SNC juegan un papel importante en funciones cerebrales complejas como atención, memoria, cognición y generación de sueño MOR¹²¹.

Los datos clínicos sugieren su participación en la patogénesis de ciertos desórdenes neuropsiquiátricos, por lo que han sido el blanco para el desarrollo de tratamientos farmacológicos para problemas de memoria en sujetos con Alzheimer y otros trastornos neurodegenerativos¹²².

Se ha buscado corregir los problemas cognitivos causados por las deficiencias colinérgicas existentes en pacientes con enfermedad de Alzheimer estimulando la liberación de acetilcolina con el uso de nicotina¹²³, su administración disminuye el efecto atenuante de las funciones cognitivas en pacientes con Alzheimer¹²⁴, y provoca mejoría en la ejecución de tareas de memoria espacial, de trabajo y a corto plazo.

Utilizando ratas knock out se determinó que la ausencia de la subunidad β_2 en los receptores colinérgicos produce deterioro en el aprendizaje, después de lesiones en los núcleos colinérgicos del cerebro basal anterior, se ha observado que la nicotina mejora la ejecución en el aprendizaje, por lo que es frecuente que los fumadores consuman un cigarro antes de realizar una tarea que requiera prestar atención y estar alerta¹²⁵.

El consumo de tabaco produce incremento de la vigilancia y mejora el rendimiento en tareas cognitivas en individuos sanos, fumadores y pacientes con Alzheimer¹⁰⁰.

En base a todos estos estudios, la nicotina se ha utilizado en los últimos años como tratamiento alternativo en algunas enfermedades, debido al papel que posiblemente tienen la acetilcolina en la patogenia de algunas enfermedades como: enfermedad de Parkinson, Alzheimer, síndrome de Tourette, esquizofrenia, desorden de hiperactividad y déficit de atención, así como en la depresión¹²¹.

Aunque es posible que mecanismo de interacción de la nicotina en trastornos depresivos puede estar mediada a través de sus efectos neuroprotectores, ya que la activación de receptores nicotínicos muestra efectos neuroprotectores y neurotróficos¹²⁶, parece que su acción antidepresiva es debido a que participa en la liberación de serotonina y dopamina.

2.2.2 Farmacocinética

Se ha logrado estudiar la farmacocinética de la nicotina mediante el uso de modelos farmacocinéticos y farmacodinámicos, en los cuales la respuesta farmacológica se puede evaluar en humanos, bajo condiciones normales o basales y en adictos a nicotina, mediante la taquicardia producida/inducida por la nicotina.

Este tipo de aproximaciones farmacocinéticas muestra la relación de los cambios en la frecuencia cardíaca con los cambios en las concentraciones de nicotina, así como el grado de ocupación de los receptores nicotínicos, y los cambios conductuales en el número de cigarrillos que fuman los pacientes¹²⁷.

2.2.2.1 Absorción

La nicotina es una base débil, con un pKa de 8.0, su absorción se lleva a cabo a través de membranas biológicas por difusión simple siguiendo el principio de Henderson-Hasselbach¹²⁸. Y es debido a esta propiedad fisicoquímica que se logra explicar la facilidad y la gran velocidad que la nicotina presente en las hojas de tabaco alcanza la sangre a través de la piel¹²⁹.

La nicotina absorbida transdérmicamente no se encuentra directamente con las enzimas hepáticas que la biodegradan, a diferencia de cuando se administra vía oral; las concentraciones sanguíneas que se alcanzan son mayores y pueden llegar a niveles tóxicos. La velocidad y la cantidad de nicotina dependen de la permeabilidad y perfusión tisular local. Su absorción puede incrementarse de 5 a 10 veces cuando la perfusión tisular aumenta, por ejemplo, como cuando se calienta la piel^{115,130}.

La vía de ingreso más frecuente es la inhalada, distribuyéndose rápidamente a través del torrente sanguíneo y cruzando la barrera hematoencefálica (BHE). Su vida media es de aproximadamente 2 horas, en estudios de imagenología se ha observado su efecto en el SNC hasta después de 3 horas¹³¹.

La nicotina se destila al quemarse el tabaco y es acarreada sobre las gotas de las partículas inhaladas, en el humo del tabaco la nicotina está principalmente ionizada, ya que el pH es de 5.5 a 6.0, cuando es protonada se transporta activamente hacia diferentes tejidos, utilizando un sistema de transporte mediado por un gradiente iónico de H⁺, como es el caso del hígado que es donde la nicotina es metabolizada.

La nicotina alcanza un pH 7 en los alvéolos del pulmón, donde es rápidamente absorbida, y los niveles sanguíneos de nicotina incrementa alcanzando concentraciones máximas, rápidamente al fumar¹³². Después de una inhalación del cigarrillo, los niveles cerebrales de nicotina alcanzan 2 mg aproximadamente en un tiempo de 10 a 20 segundos, mucho más rápido que por administración intravenosa (IV) que alcanzan concentraciones máximas venosas de 15 a 30 ng/mL en 5 a 8 minutos y arteriales de 20 a 60 ng/mL en 3 a 5 minutos; lo que representa una disponibilidad de 80 a 90% de toda la nicotina inhalada^{115,133}.

No existe correlación entre las concentraciones plasmáticas máximas de nicotina que se alcanzan después de la administración IV o después de fumar, y la aparición o duración del efecto de placer reportado. La concentración plasmática de nicotina alcanza el nivel máximo de 4 a 6 minutos después de la administración IV y de 12 a 14 minutos después de fumar. La máxima respuesta de placer ocurre a los 2 minutos con ambas formas de administración

y ésta decae de forma rápida, esto independientemente de que las concentraciones se encuentren en aumento¹³⁴.

En la exposición a la nicotina residual en el ambiente contaminado por humo de tabaco, una persona expuesta al humo del tabaco puede alcanzar niveles significativos de ocupación de sus receptores nicotínicos cerebrales, este proceso explica el reforzamiento conductual a través de la activación dopaminérgica del sistema de recompensa¹³⁵. Donde la rapidez de la elevación de los niveles de nicotina le permite al fumador conocer el nivel de nicotina que necesita para producir el efecto deseado al fumar, debido a esto es que el hábito de fumar es la forma de administración de nicotina más reforzadora y causa dependencia¹²⁷.

La cantidad de nicotina inhalada al fumar depende del volumen de la fumada/inhalada, profundidad de la inhalación, magnitud de dilución con el aire ambiental, frecuencia e intensidad de lo que se está fumando.

La biodisponibilidad de la nicotina administrada por vía oral, con cápsulas, es de 20 a 45% y alcanza una concentración máxima en aproximadamente 1 hora, esto debido principalmente al efecto del metabolismo hepático (llamado efecto de primer paso)¹¹⁵.

Con el tabaco masticado, o inhalado, las concentraciones de nicotina que se alcanzan en el cerebro son similares a los que se alcanzan fumando tabaco, donde la concentración máxima pueden alcanzarse en 30 minutos, podría permanecer elevada hasta por 2 o más horas¹³⁶.

Utilizando la forma farmacéutica del parche transdérmico, la velocidad de liberación depende de la velocidad de difusión, que se lleva a cabo a través de una matriz de polímeros colocados en multicapas; determinando el tiempo para alcanzar la concentración máxima, que puede ser de menos de una hora^{115,137}.

2.2.2.2 Distribución

Los niveles más altos de nicotina en sangre se alcanzan al terminar un cigarro completo, y declinan rápidamente en los siguientes 20 minutos por la distribución en el tejido corporal, el volumen de distribución en humanos es 2.6 veces el peso corporal¹³⁸.

En la sangre la nicotina se encuentra no ionizada en 31% y menos del 5% se une a proteínas plasmáticas. Su volumen de distribución aparente es de 2.2 a 3.3 L/Kg, con una depuración renal de 35 a 89 mL/min, vida media de eliminación de 100 a 150 min. La nicotina se acumula en el jugo gástrico y en la saliva. Las concentraciones jugo gástrico/plasma y saliva/plasma son de 61 y 11 en la administración transdérmica, estas cambian cuando se inhala a 53 y 87¹¹⁵.

2.2.2.3 Metabolismo

La nicotina es metabolizada por el hígado y se han identificado seis metabolitos primarios: 3'-hidroxicotina, 5'-hidroxicotina, N-óxido de cotina, ión metonio de cotina, glucurónido de cotina y norcotina; cuantitativamente el más importante es la cotina^{139,140}. La 3'-hidroxicotina y su glucurónido representa en la orina el 40 a 60% de la dosis administrada de nicotina de los fumadores¹⁴¹.

Aproximadamente del 80 al 90% de la nicotina absorbida es metabolizada en el hígado; pero una fracción significativa, pero variable, puede ser metabolizada en el pulmón cuando se absorbe por inhalación¹⁴².

La nicotina se excreta vía renal por filtración glomerular y tubular con reabsorción variable, dependiendo del pH de la orina. En orina ácida, la nicotina se ioniza y la reabsorción tubular se minimiza; en orina alcalina, una mayor cantidad de nicotina se desioniza, seguida por la reabsorción tubular. La excreción de cotina está poco influida por el pH urinario, debido a que es más básica y, además, es dependiente de la tasa de flujo urinario¹⁴⁰.

La cotina, es el principal metabolito activo que tiene una vida media superior a las 48 horas; por lo que suele emplearse como un indicador de la exposición a nicotina en humanos. Tiene efectos muy modestos sobre la función cognitiva y sobre el sistema cardiovascular, pero modifica significativamente los síntomas de la abstinencia a la nicotina¹⁴³.

El 70 a 80% de nicotina puede ser metabolizada también por medio de dos rutas no-oxidativas que producen metilación del nitrógeno del anillo piridínico. De esta forma produce el ión de N-metil nicotina, para el cual el S-adenosil-L-metionina es la fuente del grupo metilo y la reacción es catalizada por la amina N-metiltransferasa¹¹⁵.

En humanos, aproximadamente de 3 a 5% de la nicotina es convertida a glucuronato de nicotina en una reacción catalizada por la uridinadifosfato-glucuronosiltransferasa (UGT), y excretada en la orina¹¹⁵.

La N-desmetilación oxidativa de la nicotina produce nornicotina y aunque esta es una vía metabólica de menor importancia, su presencia es indicativa de la exposición al tabaco y usualmente su concentración es muy baja cuando los pacientes reciben terapia de reemplazo¹¹⁵.

El polimorfismo genético del CYP2A6 y de UGT es un factor determinante de la variabilidad individual y de las diferencias raciales descritas para la tasa metabólica de la nicotina, por ejemplo: Los asiáticos y afroamericanos metabolizan la nicotina más lentamente que los caucásicos o hispanos¹⁴⁴.

El metabolismo extrahepático de la nicotina ocurre en los pulmones pero su contribución cuantitativa es muy pequeña. La variabilidad que se observa en la eliminación de la nicotina y de la cotinina parece estar relacionada a factores fisiológicos como la dieta, hábitos alimenticios, y la hora del día en la que se administre y/o ingiere la nicotina¹¹⁵.

Así como el sexo, edad, y en el caso de las mujeres el ciclo hormonal (menstrual), embarazo, lactancia. La velocidad del metabolismo de la nicotina es más rápido en las mujeres que en los hombres, por sus ciclos hormonales y se encuentra más acelerado durante el embarazo o cuando reciben tratamiento con anticonceptivos orales^{115,145,146}.

2.2.2.4 Excreción

Aproximadamente el 90% de una dosis sistémica de nicotina se recupera como nicotina y sus metabolitos en la orina. Al menos el 1% de la nicotina consumida se excreta en heces¹⁴⁷.

El 70 a 80% de la nicotina que se convierte a cotinina, se excreta intacta en la orina en una pequeña proporción que representa el 10 a 15% de la nicotina y metabolitos en orina. La velocidad de excreción urinaria es dependiente del pH; esta disminuye cuando la orina es alcalina, también se excreta con la leche materna¹⁴⁸.

2.2.3 Propiedades antidepresivas

Existe una relación entre el sistema serotoninérgico y la nicotina¹⁴⁹, debido a que la ACh ejerce efecto mediante la activación de los receptores nAChRs en este sistema. Y es gracias a esta relación que en la actualidad gran parte de los tratamientos antidepresivos causan un efecto sobre este sistema¹⁵⁰.

Algunos estudios muestran que los efectos estimulantes de la nicotina pareciera involucrar a los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico¹⁵¹, y es por ello que los receptores nAChRs juegan un papel importante en el trastorno depresivo, sobre todo en el MDD, así como en la adicción a la nicotina.

Debido a esta interacción es que se sugiere que los ligandos específicos que actúan en nAChRs reducen significativamente los comportamientos de tipo depresión en modelos básicos/preclínicos que imitan el trastorno por MDD y el uso de nicotina, por lo que se ha evaluado la aplicación directa de nicotina como antidepresivo en muchos estudios tanto en modelos animales como en clínica. Los cuales sugieren que los ligandos de nAChR pueden ser el blanco para beneficiar la reducción de los síntomas de depresión, como un tratamiento efectivo para los signos/síntomas de la depresión¹⁵².

En contraparte mientras que la nicotina puede aliviar los síntomas de los trastornos mentales, se ha demostrado que la abstinencia de nicotina empeora los síntomas de estos trastornos, mientras que la activación, la desensibilización y la regulación positiva de los nAChR modulan los efectos de la nicotina sobre las enfermedades mentales, entre ellas la depresión¹⁵³.

Freitas y colaboradores compararon los efectos de la nicotina con un agonista selectivo de $\alpha 4/6\beta 2$ en ensayos de comportamiento estimulado por dolor en ratas, en donde la nicotina produjo que la estimulación del nAChR $\alpha 4\beta 2$ y/o $\alpha 6\beta 2$ puede ser especialmente eficaz para aliviar los signos de depresión conductual relacionada con el dolor en ratas¹⁵⁴.

En otro estudio en ratas, el efecto de la nicotina sobre un estado anhedónico similar al estrés leve crónico (CMS) es similar al de un fármaco antidepresivo estándar, además de que alivia la perturbación cognitiva inducida por CMS, por lo que un tratamiento que implique como objetivo a los nAChRs, puede resultar benéfica para los trastornos emocionales y cognitivos asociados con la depresión¹⁵⁵.

En el estudio donde se examinó el efecto antidepresivo de la nicotina y su posible interacción con el sistema serotoninérgico, se evaluó el efecto de la nicotina y la fluoxetina (FLX) en un modelo animal de depresión inducida por el tratamiento neonatal con clomipramina (CLI), donde también se les evaluó la inmovilidad en la PNF.

En ratas tratadas con CLI los niveles de inmovilidad son mayores con respecto con los controles (solución salina), pero después de la administración aguda de nicotina (0.4 mg/kg) de un día, subcrónicamente de 7 días y crónica de 14 días, se redujo significativamente la inmovilidad y aumentaron la natación sin afectar la escalada.

Estos efectos fueron similares a los efectos inducidos para la administración subcrónica y crónica de FLX (5 mg/kg), un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, pero sin tener efecto en la inmovilidad al administrarse de forma aguda.

El aumento de la natación durante la PNF se relaciona con un aumento de la actividad serotoninérgica, por lo que la acción antidepresiva de la nicotina podría estar mediada por el sistema serotoninérgico¹⁵⁶.

En otro estudio en donde se determinó si los efectos de la nicotina sobre los patrones sueño-vigilia en ratas son similares a los de FLX, y se encontró que tanto la nicotina como la FLX inducen un alargamiento de la latencia del sueño MOR, por lo que la acción antidepresiva de la nicotina podría ser causada por sus propiedades excitatorias¹⁵⁷.

La administración de nicotina aguda (0.4 mg/kg) dio como resultado una reducción significativa de la inmovilidad en la PNF en ratas FH solamente, lo que implica un efecto antidepresivo de la nicotina.

Los efectos antidepresivos de la nicotina refuerzan la asociación postulada entre los receptores nicotínicos y el estriado, por lo que estos receptores podrían ser blancos adecuados para el desarrollo de farmacoterapia novedosa para el tratamiento de la depresión¹⁵⁸.

La nicotina como la mecamilamina (que es un antagonista nicotínico no selectivo y no específico del receptor de ACh), mejoran los signos/síntomas depresivos, produciendo efectos similares a los antidepresivos en roedores, se compararon los efectos de ambos fármacos en machos y hembras de ratones NMRI, C57BL/6J y BALB/c utilizando la PNF y suspensión de cola para evaluar depresión. La nicotina, aumentó la natación en ratones C57BL / 6J, y ambos fármacos aumentaron la natación en ratones BALB/c, estos efectos fueron independientes del sexo.

La nicotina carecía de efectos en la prueba de suspensión de la cola excepto en ratones C57BL / 6J hembra, donde aumentó la inmovilidad, por lo que la nicotina y la mecamilamina producen efectos antidepresivos a través de mecanismos parcialmente distintos dependiendo de la cepa de ratón¹⁵⁹.

En ratas Wistar-Kyoto, las cuales muestran una inmovilidad exagerada en la PNF, se encontró que la administración de nicotina, exacerba la inmovilidad en la PNF, sin afectar la locomoción en la prueba de campo abierto¹⁶⁰.

En ratas con daño oxidativo causado por la bulbectomía olfatoria (OBX, un modelo animal de depresión agitada), se administró nicotina de forma crónica vía IP una vez al día durante 14 días en dosis de 1.5 mg/kg. La OBX causa un aumento en los productos de peroxidación de lípidos y caspasa-3, y provoca una reducción en el contenido reducido de glutatión (GSH) y la actividad de las enzimas antioxidantes. Estos cambios fueron revertidos por el tratamiento crónico de nicotina, por lo que además de presentar efectos antidepresivos también presenta un efecto antioxidante, sugiriendo que su administración podría utilizarse como tratamiento terapéutico ya que funciona como un neuroprotector además de disminuir los síntomas de la depresión¹⁶¹.

Estudios en fumadores sugieren que existe una relación directa entre tabaquismo “nicotina” y depresión¹⁶²⁻¹⁶⁵.

El hábito de fumar refleja un medio de automedicación con nicotina por individuos con depresión, esto con la finalidad de aliviar algunos de los síntomas de la depresión¹⁶⁶⁻¹⁶⁹, por lo que la nicotina puede actuar como un antidepresivo¹⁷⁰⁻¹⁷².

La depresión recurrente se asocia con bajas probabilidades para dejar de fumar en comparación con aquellos que no cuentan con antecedentes de depresión¹⁷³, existe una alta incidencia de fumadores entre los pacientes deprimidos, y aquellos que cuentan con diagnóstico de depresión tienden a mostrar mayor dificultad para dejar de fumar y un incremento en la probabilidad para recaer¹⁷⁴⁻¹⁷⁶.

La depresión es un factor de riesgo consistente para la dependencia de nicotina, esta asociación se muestra desde las primeras experiencias con el cigarro en adolescentes, y se da a través del establecimiento de patrones de fumadores más regulares durante la transición hacia la edad adulta.

Por ello, la depresión sigue siendo un factor de riesgo prominente para la dependencia de la nicotina. En el caso de los jóvenes con síntomas de depresión representan un subgrupo importante en aquellos que se consideran fumadores crónicos, ya que cuentan con la necesidad de fumar continuamente¹⁷⁷.

Se ha observado también que durante el tratamiento para dejar de fumar los pacientes fumadores incrementa el riesgo de sufrir estados de depresión desde leves a severos¹⁷⁸, y también existe la presencia de síntomas depresivos a corto plazo durante la abstinencia de nicotina y que además son independientes del género¹⁷⁹⁻¹⁸¹.

La administración de nicotina produce placer, y disminuye la tensión muscular y la ansiedad, aumenta el estado de alerta y la agresividad, así como mejora el estado de ánimo en fumadores^{182,183}.

Además de aumentar los sentimientos placenteros y el vigor, la nicotina disminuye significativamente la depresión en fumadores, observándose un efecto dosis-respuesta^{184,185}.

Algunos autores señalan que estos efectos positivos, se limitan a la habilidad del fumador para controlar el efecto negativo asociado con la privación de la nicotina en fumadores dependientes¹⁸⁴.

En sujetos con depresión se observa incremento en la duración del sueño MOR y una disminución en los síntomas depresivos^{162,164}. Por lo que la hipersensibilidad del sistema colinérgico puede estar relacionada con el efecto de mejora del sueño MOR observado en aquellos pacientes a los que se les dio un tratamiento con nicotina, por lo que el papel de la ACh en la depresión podría explorarse con la administración de parches transdérmicos de nicotina¹⁷¹.

El parche transdérmico de 7 mg por un día produjo sensación de bienestar y disminución de conductas agresivas en no fumadores. Los rasgos de hostilidad se asocian con una mayor susceptibilidad a la dependencia de la nicotina¹⁸⁵.

La administración transdérmica mejoró el estado anímico en pacientes fumadores deprimidos vs no fumadores ni depresivos¹⁷¹. No solo el cigarro o parche transdérmico muestra efectos favorables, la administración IV de 0.75 o 1.5 mg de nicotina también produce euforia en sujetos fumadores con una duración de hasta 30 minutos¹⁸⁶.

En goma de mascar también produce efectos favorables en el estado de ánimo¹⁸⁷, 2 mg de nicotina en goma de mascar disminuye los niveles de tensión en sujetos fumadores vs 4 mg de nicotina en cigarros¹⁸⁸, pero 4 mg de nicotina en cigarros produce euforia hasta por 45 minutos en sujetos fumadores y no fumadores. En tabletas de 0.9 mg, en fumadores produce mejoría en el estado de ánimo y disminuye la tensión¹⁸⁹.

En el capítulo 3 se retomaran algunos de los puntos importantes de este subtema, ya que se hará distinción en lo que implica la diferencia sexual, de machos y hembras en los signos/síntomas y el tratamiento para la depresión, mediante el uso de tratamientos alternativos como lo son la nicotina y algunas hormonas.

CAPÍTULO 3. NEUROENDOCRINOLOGÍA DE LA RATA HEMBRA

3.1 Diferenciación sexual

El mecanismo fundamental de la diferenciación sexual, es un proceso secuencial, ordenado y simple de gran complejidad que asegura la perpetuación de las especies que se reproducen sexualmente¹⁹⁰.

El sexo cromosómico desencadena una serie de eventos en cascada que dan como resultado la diferenciación sexual de los genitales externos y del SNC, también determina las gónadas sexuales y estas a su vez determinan el sexo fenotípico. Si lo que se desarrollan son testículos, sus hormonas determinan la aparición de los caracteres sexuales secundarios propios del macho (fenotipo masculino), si son ovarios, o no hay gónadas, el fenotipo resultante es femenino, y a esto se le conoce como el dogma central del desarrollo sexual¹⁹¹.

XX es genéticamente hembra y XY es genéticamente macho, pero el sexo genético no es el único que determina la diferenciación sexual, ya que se requiere la presencia del cromosoma Y para la diferenciación de la gónada testicular, donde el gen indispensable para llevar a cabo este proceso es el gen SRY4 (por sus siglas en inglés región de la diferenciación sexual Y), localizado en el brazo corto del cromosoma Y, muy cerca de la región pseudoautosómica, región localizada en los extremos de los brazos cortos de los cromosomas X y Y, que permite la asociación de estos cromosomas durante la meiosis.

El gen SRY induce la diferenciación masculina de ratas hembras transgénicas, donde mediante manipulación genética, se les transfirió en el desarrollo embrionario este gen¹⁹². Utilizando ratones XY transgénicos con copias extras del gen DAXI (Este antagoniza con la acción del gen SRY), se demostró la demora del desarrollo testicular siendo que SRY se expresaba normalmente, y completa la reversión sexual en los animales que cuentan con mutaciones en SRY.

Se encontró que DAXI funciona más como un gen "anti-testículo" que como determinante del ovario, su interacción con el gen SRY opera en un momento crítico de la diferenciación sexual, por lo que podría actuar como un co-represor del factor-1 esteroideogénico (SF-1), el cual es un gen esencial para el desarrollo temprano gonadal; y de esta manera influye en otros genes secundarios de la determinación testicular como SOX9, que deben estar reprimidos en el caso del desarrollo ovárico¹⁹³, en base a esto si DAXI está presente en dosis muy elevadas, o se expresa más temprano que SRY, se bloquea SF-1 y SRY, por lo que SOX9 no alcanza niveles críticos necesarios para permitir la diferenciación de las células de Sertoli¹⁹⁴.

El dimorfismo sexual está determinado genéticamente y comprende una cascada de procesos que ocurren muy temprano en la diferenciación embrionaria, los cuales requieren mecanismos muy precisos de aparición, regulación y funcionamiento¹⁹⁰.

En los embriones de los mamíferos, independientemente del sexo genético durante su primera etapa de desarrollo, presentan gónadas indiferenciadas, que sin una señal de masculinización reconocible se diferencian como ovarios.

La existencia de dimorfismo sexual en el SNC se debe a la presencia perinatal de estrógenos, que podrían estimular diferencias en los niveles de expresión génica dependiendo del sexo; por lo que es importante conocer si el desarrollo de áreas características para cada sexo es resultado de un aumento o disminución del patrón de expresión de los genes que regulan el proceso de la neurogénesis, sinaptogénesis o de la muerte de las neuronas del SNC¹⁹⁵.

Durante el desarrollo embrionario las gónadas comienzan su actividad endocrina¹⁹¹, jugando un papel crucial, ya que la secreción de hormonas esteroides en una fase específica del desarrollo del SNC, llamado "periodo crítico" es capaz de ejercer cambios morfoanatómicos, bioquímicos y fisiológicos que dan lugar a modificaciones permanentes y a establecer estructuras sexualmente dimórficas¹⁹⁵. Esta actividad se inicia al mismo tiempo en machos que en hembras aunque el grado de diferenciación histológica de las gónadas es diferente en ese momento, existe dimorfismo sexual en la estructura y funcionalidad del cerebro^{196,197}.

El estradiol es la hormona que provoca la diferenciación sexual del SNC durante un periodo crítico, a través de mecanismos como la neurogénesis, apoptosis y diferenciación o funcionalidad de las células involucradas, son capaces de establecer estructuras sexualmente dimórficas en etapas tempranas del nacimiento^{198,199}.

El incremento progresivo en la secreción de estradiol por parte del ovario no parece tener una función de feminización importante en los genitales de la hembra¹⁹⁰.

Es la hormona inhibidora de Müller, hormona proteínica que interviene en la regresión de los conductos de Müller, que en la hembra dará lugar a las trompas de Falopio y al útero, contribuyendo también al desarrollo de la vagina.

Durante el desarrollo en la etapa prenatal y temprana postnatal de la rata, se expone a testosterona producida por los testículos estos producen "efectos organizacionales" en la diferenciación neuronal, crecimiento, y supervivencia como resultado en la masculinización del cerebro, y en ausencia de testosterona, el cerebro se feminiza²⁰⁰.

3.1.1 Estructura cerebral

En el SNC de machos y hembras se encuentran diferencias estructurales y funcionales, que involucran el número de neuronas, morfología e interconexiones asociadas a cambios en la fisiología cerebral, desarrollo cognitivo y conductual, estas forman parte de procesos reproductivos¹⁹⁸.

El dimorfismo neuroanatómico ligado al sexo se asocia con diferencias en las funciones cerebrales relacionadas con el componente neuroendocrino de la actividad sexual. Entre los núcleos dimórficos más estudiados se encuentran: el área preóptica (APO), el núcleo ventromedial (NVM), el núcleo supraquiasmático (NSQ) (éstos son subdivisiones del hipotálamo), la amígdala, órgano vomeronasal y la estría terminal (ST)^{195,201-203}, todas estas estructuras cerebrales se encuentran en una estrecha relación con el hipotálamo.

Este representa una interfase anatómica y funcional entre el SNC y el sistema endocrino, donde la mayor concentración de receptores a hormonas sexuales (andrógenos, estrógenos y progestinas) en el cerebro se encuentran en él²⁰⁴.

En el cerebro de machos y hembras existen importantes diferencias anatómicas y funcionales: el número y el tamaño de las neuronas en todo el hipotálamo es mayor en el macho^{195,205}, el núcleo dimórfico sexual del área preóptica (NDS-APO) en machos es seis veces más grande que en hembras, mientras que en el NVM de la hembra son más abundantes las conexiones sinápticas que en los machos^{195,199}, por lo que existe un mayor desarrollo dendrítico del APO en el macho.

El número y tipo de sinapsis en las espinas dendríticas del APO del hipotálamo es menor en la hembra, lo cual regula el patrón cíclico de liberación de gonadotropinas. La base del núcleo de la ST es más grande en machos que en hembras¹⁹⁵. La amígdala medial es 85% mayor en machos que en hembras. El tamaño del núcleo de las neuronas, así como del volumen del NSQ, son aproximadamente dos veces más grande en la hembra^{195,202}.

3.1.2 Neurotransmisión

Las hormonas gonadales activan la conducta sexual mediante un efecto local en las estructuras del SNC, y modula la interacción entre las hormonas gonadales y los NT que actúan como mediadores químicos en la comunicación interneuronal, que podrían participar en el desarrollo de las diferencias sexuales del SNC, ya que la administración prenatal de fármacos afectan sistemas adrenérgicos, colinérgicos²⁰⁶, serotoninérgicos, opioaminérgicos y gabaérgicos²⁰⁷.

Estos fármacos son capaces de modificar el desarrollo de las diferencias sexuales en el cerebro y de las conductas reproductivas.

Se han encontrado diferencias entre los sexos en cuanto al contenido de neurotransmisores y de la actividad enzimática en los sistemas anteriormente mencionados²⁰⁸, y en el número de sus receptores²⁰⁷.

Este dimorfismo encontrado en animales adultos indica dimorfismo sexual funcional y un posible dimorfismo estructural en los núcleos que sintetizan estos neurotransmisores y en los patrones de distribución de las fibras que los liberan¹⁹⁵.

En cuanto a características dimórfico-sexuales en la bioquímica de la neurotransmisión tenemos que la expresión y actividad de la enzima aromatasas es mayor en las neuronas de los machos que en la hembra, las conexiones sinápticas en los núcleos NVM y arqueado son más abundantes en la hembra que en el macho, los niveles de recambio de NT en el hipotálamo son mayores en el macho que en la hembra, también existen diferencias la expresión del sistema Ca^{2+} /calmodulina, la cual es mayor en el macho que en la hembra¹⁹⁵, y la actividad enzimática en el hipotálamo es mayor en el macho que en la hembra.

3.1.3 Receptores

La acción activadora de las hormonas sexuales tiene lugar mediante un mecanismo que incluye la unión de la hormona a un receptor citoplasmático específico (CH-R), paso del CH-R al núcleo celular, unión a la cromatina donde actúa sobre genes específicos para la síntesis de proteínas, este es el mecanismo de acción que se cree está mediando la mayoría de las hormonas sexuales sobre el SNC²⁰⁸.

Se han realizado estudios en cerebros extraídos de ratas recién nacidas para determinar los mecanismos de acción de los esteroides sexuales, en los cuales se encontró que los receptores de esteroides en el cerebro de recién nacidos, se comportan de manera similar a como lo hace el tejido nervioso en los adultos; pero hay aspectos que los diferencian, ya que en recién nacidos las concentraciones de receptores en tejido cerebral cambia, así como la distribución anatómica de los receptores de estrógenos cambia durante el desarrollo.

La transmisión sináptica y la actividad eléctrica son aspectos de la actividad cerebral estudiados desde el punto de vista neurofisiológico, así como su relación con la conducta¹⁹⁵.

Existe una relación en la neurosecreción y transmisión sináptica que incluye la liberación de productos de la neurosecreción, recaptación de NT; la capacidad de inactivación de algunas enzimas; la capacidad de biosíntesis y sensibilidad de los receptores postsinápticos a la neurosecreción²⁰⁹. Los estrógenos aumentan la actividad eléctrica de las células nerviosas en las zonas cerebrales favoreciendo la conducta reproductora, en el hipotálamo basomedial la disminuyen en las neuronas del APO, cuya estimulación interrumpe la conducta sexual femenina.

Es la sensibilidad del SNC a los esteroides sexuales y la activación de neuronas que conforman los circuitos implicados en conductas como la actividad reproductora, agresividad, aprendizaje, etc. la que posibilita la diferenciación sexual.

La formación local de estrógenos desempeñan un papel fundamental en la diferenciación sexual, tanto la inhibición de la formación de estrógenos a partir de andrógenos como el impedir el acoplamiento de los estrógenos a su receptor afecta drásticamente la diferenciación del SNC como respuesta a la testosterona perinatal¹⁹⁵.

Los estrógenos, son moléculas pequeñas lipofílicas, las cuales en su estado no unido, difunden fácilmente dentro del SNC. Tienen la potencia de influir en la función del cerebro, en una forma amplia y discreta, como en el caso de otras hormonas esteroideas. Muchos efectos son mediados por receptores y ocurren a nivel del genoma, donde regulan la expresión de genes para afectar la transcripción de proteínas específicas²¹⁰.

El proceso por el cual el complejo ligando-receptor tiene impacto en la transcripción, es la implicación de numerosas vías a través de las cuales se encuentran los efectos estrógeno específicos nucleares, llamados receptores a estrógenos (RE), que son codificados por dos genes: RE α y RE β . Los RE pueden tener actividad como homodímero o heterodímero; el complejo hormona receptor (E₂-RE) se une a determinadas secuencias del ADN, conocidas como elementos de respuesta a los estrógenos (ERE).

La iniciación de la transcripción ocurre a través de la interacción de múltiples factores, como el complejo E₂-RE-ERE y la unión de otras proteínas en las que se incluyen los coactivadores, que ayudan a estabilizar los factores de transcripción y promover el ensamble del complejo de iniciación de la transcripción^{212,213}.

Los estrógenos tienen así un efecto en la organización del SNC, tanto en la morfología como en la funcionalidad y la conducta del animal adulto. El estradiol y la unión a su receptor participan activamente en la regulación de muchas funciones hipotalámicas.

Los dos tipos de RE para estradiol, el α y β , o ER- α y ER- β ; los cuales presentan estructuras muy similares y tienen una alta homología en la secuencia de aminoácidos entre ellos^{213,214}.

Algunas neuronas expresan el ER- α y otras el ER- β , y algunas no expresan receptor, en otras regiones existen ambos tipos de receptores. Se encuentran distribuidos en el cerebro anterior, hipotálamo y amígdala, así como en las subdivisiones de estas regiones, sobre todo en las regiones o núcleos que son necesarios para las funciones reproductivas²¹⁵. En el hipocampo y la corteza cerebral predomina el ER- β .

La activación de los estrógenos en una neurona que expresa los dos receptores puede originar dos homodímeros (ER- α /ER- α y ER- β /ER- β) y un heterodímero (ER- α /ER- β), esto aumenta el potencial para la activación selectiva de los elementos de respuesta del ADN.

En la rata hembra tanto en el desarrollo como en el estado adulto, los niveles de ARNm y la proteína del receptor α , son más altos que en los machos²¹⁶, esto es debido a que el estradiol presente en el hipotálamo del macho, desregula la expresión de RE en el APO, mientras que los niveles de expresión de ARNm del ER β son más altos que en las hembras en el periodo del día 17 de vida gestacional hasta 15 días después de nacidos, que coincide con el de mayor síntesis de estradiol en el SNC.

Esto indica que la sobreexpresión de RE β se acompaña de altos niveles en la síntesis de estradiol y la expresión de aromatasa en el APO del macho, lo cual permite la diferenciación

sexual. El SNC también posee receptores para andrógenos y existe un traslape parcial entre los subtipos de neuronas que contienen receptores de andrógenos y estrógenos.

3.2 Regulación neuroendocrina de la conducta sexual femenina

La manifestación de una conducta sexo-dimórfica suele depender no solo de la acción organizadora de las hormonas sexuales durante el periodo crítico, sino que también depende de la acción activadora²¹¹.

La acción activadora de las hormonas sexuales es reversible y tiene lugar en el sujeto adulto, de manera que la presencia de niveles adecuados de hormonas sexuales permite la manifestación de la conducta y su ausencia la impide. Las conductas sexuales dimórficas²⁰⁰, son aquellas que estando presentes en ambos sexos permiten medir diferencias en alguno de sus parámetros, de hecho algunas conductas están presentes en un sexo y no en el otro.

La defeminización o desmasculinización hace referencia a la pérdida total o parcial, por acción hormonal, de la conducta sexual en sujetos genéticamente hembras o machos, respectivamente; y masculinización o feminización se refiere a la ganancia en cantidad de conducta sexual masculina o femenina, respectivamente.

En el adulto, las ratas responde a sus propias hormonas gonadales (testosterona para machos, estradiol y progesterona para hembras) iniciando el comportamiento típico sexual, esto es el efecto activacional de las hormonas que incluye comportamientos reproductivos.

Este efecto activacional se presenta debido a que las estructuras cerebrales son sexualmente dimórficas e inducen un comportamiento copulatorio que es sexualmente dimórfico.

El hecho de que las estructuras cerebrales sean sexualmente dimórficas se debe, precisamente, a "efectos organizacionales" de las hormonas circulante durante el desarrollo.

Por ejemplo, ratas hembras tratadas con testosterona o estradiol un día antes de nacer o durante las primeras horas de nacimiento muestra un incremento en la conducta típicamente masculina (se masculinizan), y disminuyen las respuestas típicamente femeninas (desfeminización), el cerebro se "organiza" de manera masculina, y es esas vías neurales las que se "activan" con testosterona en la edad adulta.

La diferencia más grande entre el SNC de machos y hembras de mamíferos es la que hace referencia a la existencia de un patrón tónico de excreción de gonadotropinas en los machos, mientras que en las hembras es el patrón cíclico²¹¹, lo que ocasiona que los niveles de testosterona permanezcan más o menos constantes en la vida reproductiva de los machos, mientras que las hembras tienen una liberación cíclica de estrógenos y progesterona.

Regiones muy concretas del SNC acumulan más esteroides en un sexo que en otro y existe este tipo de acumulación diferencial para cada tipo de hormona. Esta diferencia se lleva en el SNC y podría ser por el nivel de sensibilidad del SNC a las hormonas sexuales, y no al número de neuronas, tamaño de núcleos o patrones en las conexiones neuronales, lo que explicaría la diferencia en la conducta.

Mediante la técnica de fraccionamiento celular de estructuras aisladas se han encontrado diferencias de sexo en los niveles de receptores de algunos NT^{201,202}.

Se han encontrado diferencias entre sexos en la concentración de proteínas en homogeneizados cerebrales procedentes de zonas implicadas en el control de la liberación de gonadotropinas²⁰³, y diferencias en las mismas regiones, en hembras en distinto estado estral²⁰⁴.

En ese experimento se utilizaron machos, hembras en diestro y hembras en estro, y encontraron diferencias entre sexo (machos vs hembra) y diferencias dentro del sexo femenino (diestro vs estro); en ambos casos la dirección de las diferencias cambiaba al pasar de una región a otra, pero en relación a hipotálamo, tálamo, cuerpo estriado y amígdala, todos implicados en el control de la liberación de gonadotropinas²¹³.

Las diferencias sexuales en conducta, están determinadas por una combinación de factores genéticos, hormonales y ambientales²⁰⁰.

El estudio del comportamiento en la rata ha sido necesario para entender la endocrinología del sistema reproductivo en machos y hembras.

El comportamiento sexual en las hembras está dado por la atracción hacia el macho en donde muestra conductas de atractividad, proceptividad y receptividad.

La atractividad comprende eventos no conductuales, como la emisión de señales odoríferas (feromonas) que hacen atractiva a la hembra para un macho sexualmente activo. La proceptividad consiste en patrones motores que la hembra realiza, que están dirigidos al macho para atraerlo y eventualmente copular con él. Los más evidentes son los saltos sobre sus cuatro patas (“hopping”), o las carreras cortas en zig-zag (“darting”) que terminan con la inmovilidad de la hembra y el orejeo (“ear wiggling”), caracterizado por un movimiento rápido de la cabeza que provoca la vibración de las orejas.

La receptividad sexual es la conducta sexual más estudiada, consiste en el arqueamiento del lomo (lordosis), seguida de la elevación de la región perianal y un movimiento lateral de la cola, para facilitar la intromisión por parte del macho.

Esta conducta depende, en las ratas hembras, de la acción secuencial del estradiol (E₂) y la progesterona (P₄).

La extirpación de los ovarios, glándulas donde se sintetizan estos esteroides, provocan la desaparición de la conducta sexual y el tratamiento secuencial de E₂ y P₄ la restablecen en forma adecuada. El tratamiento sólo con estrógenos puede restablecer el comportamiento sexual, aunque con ausencia de los componentes proceptivos.

Con respecto a la progesterona, ésta por sí sola es incapaz de facilitar la conducta sexual femenina.

El pretratamiento con E₂ a ratas ovariectomizadas provoca la respuesta a la administración de la P₄, quien a su vez, facilita la receptividad sexual con latencia de horas.

La inducción de la conducta sexual femenina depende de la secreción, desde los ovarios, de hormonas como el estradiol y, horas después, la progesterona; este evento está sincronizado con la ovulación (ver figura 13 y sección 3.2.2.3 para mayor información).

Dicha conducta se presenta cada cuatro o cinco días, cuando ambas hormonas vuelven a alcanzar sus niveles máximos, el comportamiento sexual en la rata hembra está en función de una interacción compleja de hormonas, neurotransmisores y de la circunstancia ambiental. Por ello, las ratas hembra no son estacionales, cuentan con ovulaciones.

3.2.1 Estructuras que participan

Como ya se mencionó en el punto 3.1.1., los núcleos dimórficos más estudiados son: el APO, el NVM, el NSQ (todos éstos son subdivisiones del hipotálamo), la amígdala, órgano vomeronasal y la ST²⁰¹⁻²⁰³. El NVM, regula la conducta sexual de las hembras²¹³.

En ratas, las hembras expresan receptividad sexual por medio de una respuesta refleja que se conoce como lordosis, esta conducta de receptividad sexual se ve mediada por altos niveles de estrógenos y progesterona; de lo contrario, la hembra rechaza los acercamientos sexuales del macho.

El número de contactos sinápticos en el NVM en la hembra varía a través del ciclo estral, existiendo un mayor número de sinapsis y de espinas dendríticas durante el proestro que en el diestro¹⁹⁵.

El NSQ regula los ritmos cíclicos o ritmos circadianos del cuerpo, este núcleo genera y coordina ritmos hormonales, fisiológicos y conductuales con una periodicidad de 24 horas.

La neuroquímica de este núcleo también difiere entre homosexuales y heterosexuales; contiene el doble de neuronas inmunorreactivas a vasopresina en comparación con heterosexuales¹⁹⁵. También se encuentra asociado con la conducta sexual, el tratamiento con antiestrógenos a ratas durante el periodo neonatal aumenta los parámetros de conducta de la presentación de lordosis y de monta¹⁹⁵.

Si se administran antiestrógenos durante el periodo prenatal y posnatal, se ve un aumento del 59% de las neuronas que contienen vasopresina en el NSQ, así como una conducta “heterotípica” en ratas; es decir, que presente una preferencia por el sexo opuesto; si el tratamiento con antiestrógenos se limita al periodo prenatal no se observan estos cambios¹⁹⁵.

El dimorfismo presente en esta estructura está bajo el control de las hormonas sexuales, y que factores posnatales.

En el APO del hipotálamo reside el mecanismo de regulación diferencial de las características dimórficas relacionadas con el sexo, como el control de la conducta sexual y la liberación cíclica de gonadotrofinas y el mecanismo de la ovulación^{214,215}. La densidad neuronal en esta región es varias veces más grande que otras regiones cercanas, en base en esto, se definió esta área como el DNS-APO²¹⁴.

Los resultados obtenidos mediante la provocación de lesiones, así como los observados como consecuencia de la acción directa de implantes de esteroides en el área preóptica de neonatos hembra, han demostrado de una manera bastante clara el papel que este núcleo desempeña en el establecimiento de la conducta y fisiología reproductiva específica de la rata²¹⁶. A pesar de que las neuronas del DNS-APO son capaces de “captar” esteroides más rápidamente que las neuronas situadas en otros núcleos cercanos, el volumen de este núcleo no parece ser sensible a la acción de los esteroides gonadales en el adulto. El tratamiento de adultos gonadectomizados, tanto hembras como machos, con hormonas esteroides exógenas, restaura la conducta copulatoria tanto masculina como femenina, sin modificar el tamaño del DNS-APO.

El SDN-POA es un área importante en el estudio de la diferenciación sexual, ya que las diferencias sexuales en el volumen quedan definitivamente establecidas durante la primera semana de vida posnatal de la rata, de manera casi simultánea al periodo en que también queda asentada la diferenciación sexual funcional del cerebro. Al nacimiento, el volumen es casi el doble en las hembras, durante los siguientes diez días hay un incremento gradual en el volumen de los machos, mientras que en este mismo periodo no hay cambios significativos en el tamaño del núcleo de la hembra²¹⁷. Esta diferencia en el patrón de crecimiento es el resultado de las hormonas de origen testicular que actúan en el macho^{218,219}.

La amígdala es considerada como el centro de las emociones y regulador de reacciones de agresividad, miedo y ansiedad. La porción anterior de la amígdala corticomedia aumenta la receptividad en ratas hembras, mientras que la porción posterior del núcleo lateral reduce la receptividad, se cree que la amígdala no regula directamente la lordosis, pero contribuye en la motivación o excitación sexual. Esta estructura también es un centro de integración de información olfativa, es importante en la expresión de conducta sexual.

3.2.2 Hormonas

3.2.2.1 Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)

El eje hipotálamo-hipófisis-ovario es la vía neuroendocrina fundamental que regula la expresión de la conducta sexual femenina, el hipotálamo libera la GnRH que a su vez estimula la liberación de FSH y LH desde la hipófisis y éstas participan en la liberación de estrógenos y progesterona desde los folículos ováricos.

La hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en la rata adulta, es producida por neuronas que se encuentran dispersas en el complejo de la banda diagonal septum medial y el hipotálamo rostral²²⁰.

En el hipotálamo, las neuronas parvocelulares neurosecretoras de GnRH se encuentran en el núcleo arcuato, el núcleo periventricular, el paraventricular y el APO, de estas zonas la GnRH es transportada a la eminencia media y liberada al sistema portal hipotálamo-hipofisiario, preferentemente en el surco infundibular.

El NVM está implicado en la secreción de GnRH y somatostatina en ambos sexos, su patrón secretor varía de acuerdo al sexo.

En estudios in vitro, se ha demostrado que las ratas macho secretan mayor cantidad de GnRH que las hembras. El patrón de secreción relacionado con el sexo depende de la exposición por el hipotálamo a hormonas gonadales en el periodo neonatal y en la vida adulta.

En ratas gonadectomizadas, en ambos sexos, la administración de testosterona y dihidrotestosterona produce un aumento de los niveles de GnRH en el VMN del hipotálamo. En ratas hembra ovariectomizadas, los estrógenos no afectan los niveles de GnRH, pero en machos se reducen los niveles de GnRH y de su ARNm²²¹.

3.2.2.2 Hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH)

Las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) son glicoproteínas producidas y liberadas por la hipófisis anterior, que se vierten al torrente sanguíneo para llegar a las gónadas. Su secreción está regulada por la acción de la GnRH, y provee el enlace entre los sistemas nervioso y endocrino a través del sistema hipotálamo-hipófisis^{222,223}. Ambas hormonas, favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis, capacitando al organismo para que se pueda reproducir.

La FSH, en la hembra, actúa sobre los folículos en los que se encuentran los óvulos en desarrollo, produciendo su crecimiento además de iniciar la secreción de estrógeno, que al alcanzar determinados niveles, inhibe la secreción hipofisaria de la FSH. Junto con los estrógenos estimulan la formación de la cavidad antral y la expresión de receptores para LH en las células de la granulosa del folículo preovulatorio^{216,224}. La LH reinicia la meiosis en el

folículo preovulatorio, desencadena la ovulación, controla su desarrollo y mantiene el cuerpo lúteo. Ejerce su función al unirse a receptores de membrana en células de la granulosa y teca del folículo preovulatorio produciendo un aumento del AMPc vía adenilato ciclasa. Los folículos ováricos a su vez secretan estrógenos que cuentan con retroalimentación positiva sobre la secreción de LH al final del proestro, disparando así la ovulación. Tras el estro, los folículos que han liberado óvulos se transforman en cuerpos lúteos, los cuales secretan progesterona y en menor grado estrógenos²²⁵.

Si el óvulo no se fecundó, el cuerpo lúteo gradualmente degenera y deja de secretar progesterona, lo que da lugar a que el proceso vuelva a comenzar, es decir es un ciclo de secreción hormonal, que a su vez determina la ciclicidad uterina que lleva a lo que se conoce como ciclo estral, que se tratará más adelante.

3.2.2.3 Estrógenos

El término estrógenos se le da a un grupo de hormonas gonadales, estos cumplen una función vital en la fisiología reproductiva de hembras y machos al estimular el crecimiento y diferenciación celular en tejido mamario, útero, vagina, ovario, testículos, epidídimo y próstata, así como el moldeo del contorno corporal femenino incluyendo el desencadenamiento del brote de crecimiento puberal tanto en huesos largos, como de vello axilar y púbico^{226,227}.

También pueden actuar como moduladores de procesos relacionados con la plasticidad sináptica, el desarrollo neuronal^{228,229}, como reguladores de ciertas funciones cerebrales tales como la conducta, memoria, cognición y estados afectivos^{228,230}. En el SNC los estrógenos actúan por medio de mecanismos genómicos (receptores intracelulares) y no genómicos (receptores membranales) modulando la síntesis, liberación y metabolismo de neurotransmisores, neuropéptidos y neuroesteroides²²⁸.

Los podemos clasificar en tres grupos:

1. Estrógenos Naturales: Compuestos esteroides de 18 átomos de carbono, tal como: estrona (E_1), 17 β -estradiol (E_2) (figura 9), y estriol (E_3). En mujeres con premenopausia los ovarios son la principal fuente de E_2 , en el hígado la mayoría de la E_1 y E_3 se forma en él, a partir de E_2 , en tejidos periféricos a es partir de androstendiona. En la postmenopausia, la androstenediona, testosterona y E_1 son los principales precursores de la producción de estrógenos²²⁸.

2. Estrógenos conjugados o semisintéticos: Son aquellos estrógenos naturales a los que se les realizó una modificación química. Como: premarina, etilenestradiol o levonorgestrel (EE_2), diefilesfilbestrol (DES), clotrianiseno, dienestrol, fosfestrol, mestranol, fosfato de poliestradiol y quínestrol²²⁸.

3. Fitoestrógenos: Son compuestos polifenólicos no esteroideos, extraídos de plantas con actividad estrogénica. Se pueden encontrar en plantas como: soya (genisteína y daidzeína), trigo, trébol rojo (Promensil) y cacahuates. En base a su estructura química, se clasifican en estilbenoides, lignanos y flavonoides^{228,230}.

Los esteroides gonadales como la E₂ y la progesterona actúan en muchos órganos y tejidos periféricos, estas se unen a la superficie externa de la membrana celular. Es por ello que los estrógenos se unen a través de receptores membranales y funciona como antidepresivo, como se mencionó anteriormente.

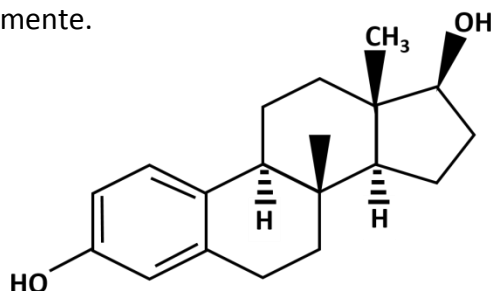


Figura 9. Estructura del estrógeno natural: estradiol (17 β-estradiol, E₂).

3.2.2.4 Progesterona (P₄)

Los receptores membranales para cortisona y progesterona han estimulado el estudio de los efectos no genómicos (vía segundos mensajeros) de la P₄²²⁹, a través de abordajes electrofisiológicos, mediante los cuales se han encontrado cambios en la excitabilidad neural con latencias muy cortas y estudios farmacológicos en los que se ha reportado una interacción específica de la progesterona con receptores membranales.

Gracias a esto se consideró que la acción de la progesterona es mediante receptores no genómicos, los cuales facilitan la conducta sexual femenina²³¹.

La P₄ es un esteroide de 21 átomos de carbono cuya estructura química consiste básicamente en el ciclo pentanoperhidrofenantreno y procede de la pregnenolona (figura 10), la cual proviene del colesterol. Se divide en dos grandes grupos: las progesteronas naturales y sus derivados y la progesterona sintética y sus derivados conocidos como progestinas, de los cuales existen los derivados de la progesterona (pregnano o no pregnano) y los derivados de la testosterona (etilados y no etilados)²³².

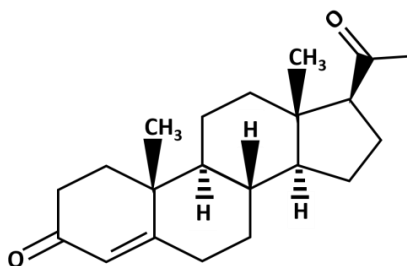


Figura 10. Estructura de la progesterona (P₄).

Esta hormona se había caracterizado como una típica hormona sexual femenina por producirse en el cuerpo lúteo ovárico, durante la segunda parte del ciclo estral. Sin embargo, la progesterona y sus metabolitos también son biosintetizados por las células gliales en el SNC y por las células de Schwann en el SNP²³².

Las neuronas del hipotálamo, las del cuerpo estriado, las de la amígdala, las del septum, las del cerebelo y las de la corteza cerebral también sintetizan progesterona^{232,233}. Es un neuroesteroide activo que influye de diversas maneras en diferentes patrones del comportamiento, y no sólo del reproductivo²³².

En la biosíntesis esteroidea intervienen: citocromo P450 (scc, 17- α -hidroxilasa, aromatasas) y la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β HSD). Estas enzimas regulan la conversión del colesterol en pregnenolona, de pregnenolona a progesterona y andrógenos en estrógenos²³², que al metabolizarse activamente en el tejido cerebral da origen a las progestinas, por lo que sus podrías ser mediados por sus metabolitos²³⁴.

Como se mencionó anteriormente, la liberación de estradiol y progesterona dependen de la presencia de las LH y FSH y la liberación de estas dependen a su vez de GnRH, en la figura 13 se puede observar parte de esta dependencia.

3.3 El ciclo estral

Las ratas hembra experimentan un ciclo hormonal llamado ciclo estral, que inicia entre los 35 y 45 días de edad, y se detiene entre los 10 y 15 meses de vida, aunque algunos autores especulan que es entre los 8 y 12 meses de edad cuando ocurre la oleada preovulatoria de LH, esta se atenúa y retrasa²¹².

El ciclo estral está dado bajo el control del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal por una retroalimentación negativa o positiva. El ovario tiene su propia actividad y regulación local, donde el eje controla y modula la etapa final del crecimiento del folículo y de la ovulación bajo la influencia de alternadas mareas de las señales del ovario (E_2 y P_4)²³⁵.

El ciclo comienza con el desarrollo de foliculos de ovocitos en el ovario²¹², la ovulación ocurre al comienzo del proestro y termina en estro²³⁶. La fase de proestro en la rata hembra puede ser considerada la fase folicular, y la fase de diestro 2 como fase lútea. Ambas fases son expresiones dominantes dictadas por el predominio de estrógenos en la primera y de progesterona en la última. La duración del ciclo estral en las ratas es de entre 4 a 5 días y consiste en 4 fases: proestro, estro, metaestro y diestro, como se observa en la figura 11.

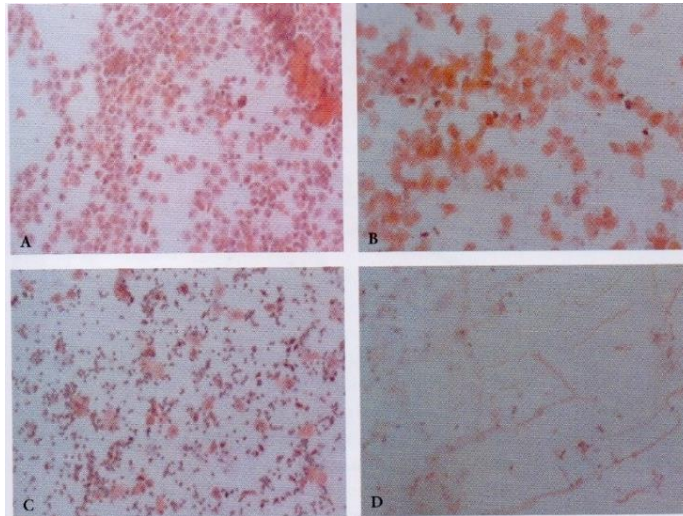


Figura 11. Predominio de células en las 4 fases: (A) proestro, (B) estro, (C) metaestro, y (D) diestro 2. Tomado de *The behavior of the rat laboratory: A handbook with tests*; 2005²¹².

Las 4 fases del ciclo estral se describen como:

Proestro: en esta fase del ciclo, los niveles de estrógeno comienzan a elevarse y los niveles de progesterona son muy bajos. La longitud de la fase varía entre las hembras, y la oleada de gonadotropina desencadena la ovulación²³⁴.

Durante esta fase, los estrógenos producen cambios sobre el epitelio vaginal²¹², caracterizada por la presencia de células epiteliales predominantemente largas y nucleadas ocasionalmente cornificadas, con una duración de entre 12 a 14 horas y le precede al estro. La concentración en suero de E₂ comienza en medio de la fase de proestro, y dura aproximadamente 6 a 12 horas, después de la ovulación, alcanza su pico máximo con una concentración de 100 a 150 pg/mL, cerca del mediodía²³⁷. Este patrón de secreción es un disparador del pico preovulatorio de GnRH y prolactina (PRL)²¹², gracias a esto ocurre el desarrollo folicular.

Estro: Es evidenciada por predominio de células cornificadas, comienza en la noche y dura cerca de 25 – 27 horas.

Durante esta fase, la ovulación ocurre espontáneamente, se da la receptividad sexual, en la que se exhiben comportamientos alternos, incrementando la probabilidad de apareamiento²³⁸. La concentración en suero de E₂ decrece a valores basales (la concentración en suero basal de estradiol en "estro vaginal" es de 3 a 12 pg/mL aproximadamente)²³⁹, hacia el final de la noche en la fase de estro y diestro por la mañana.

Metaestro: Caracterizado por la presencia de pocos leucocitos, moco, y algunas células epiteliales cornificadas (nucleadas). Dura cerca de 6 a 8 horas, en la cual ocurre tumefacción de la vulva y una masa cérea aparece en la vagina.

Durante esta fase ocurren alteraciones rápidas en la síntesis de esteroides e incrementa la expresión en las enzimas proteolíticas, y así a la producción de factores antigénicos^{240,241}, estas oscilaciones hormonales (Figura 12) y otras cascadas funcionales trabajan para concertar la extrusión de la fertilización del ovocito y la formación del cuerpo lúteo. Se ha asumido que la luteinización representa la terminación en la diferenciación de gránulos en las células lúteas^{212,242}.

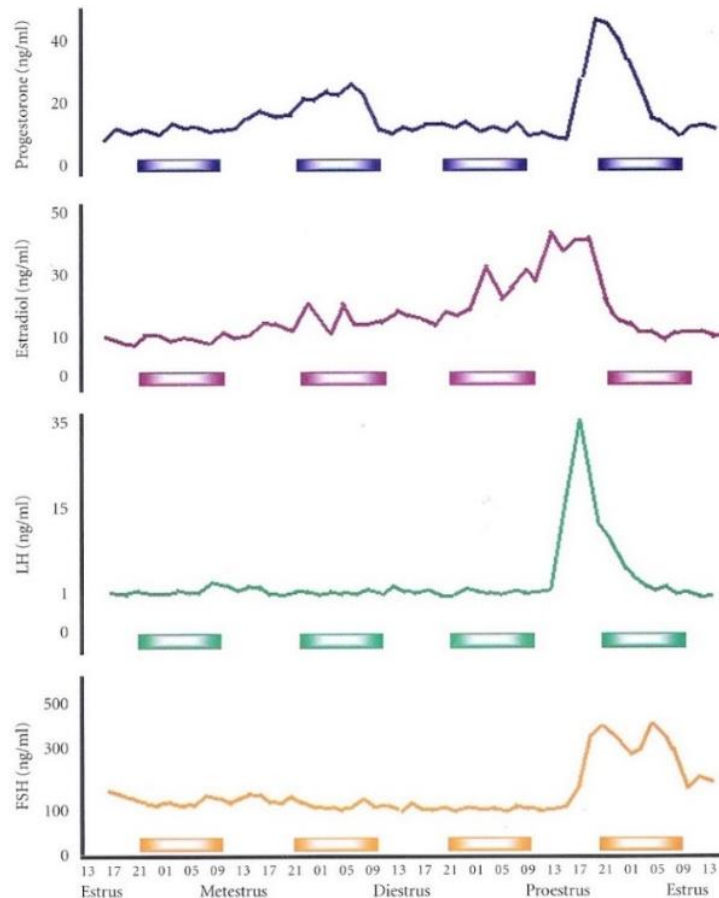


Figura 12. Concentraciones hormonales (progesterona, estradiol, LH, y FSH) a lo largo del ciclo estral en las ratas. Tomado de *The behavior of the rat laboratory: A handbook with tests*; 2005²¹².

Esta es la fase lútea que corresponde a la formación de cuerpo lúteo en la superficie del ovario, el cuerpo lúteo produce la hormona progesterona la cual incrementa bruscamente a principios de la fase de diestro 1 y cae bruscamente en el diestro 2, incrementa unas horas después de la ovulación, y cerca de 4 a 6 horas después el estradiol surge, durante la tarde del proestro. La secreción de P₄ y E₂ del cuerpo lúteo inhiben la producción de la GnRH.

En ratas, el cuerpo lúteo inicia funcionalmente en hembras con comportamiento sexual activo como un reflejo progestacional (2 veces diarias de PRL)²³⁴, esta producción mantiene el cuerpo lúteo, así que la P₄ es liberada e implantada para que los óvulos puedan ser fertilizados²⁴³, impide la maduración de nuevos folículos permitiendo el mantenimiento del embarazo.

Diestro: Se identifica por el predominio de leucocitos. Es la fase más larga y dura cerca de 55-57 horas, es por eso que se llega a dividir en diestro 1 y diestro 2, esto se refiere al primer o segundo día de diestro. Su duración depende de la regresión del cuerpo lúteo, de no existir fecundación, el cuerpo lúteo degenera, de tal manera que los niveles de progesterona son altos en diestro 1 y bajos en diestro 2, lo que permite reiniciar el ciclo^{236,239}. Al finalizar la fase lútea, también se pierde epitelio uterino y vaginal.

Si los óvulos son fecundados, el cuerpo lúteo se mantiene por aproximadamente 12 días; después de los 12 días, la placenta es la responsable de mantener la secreción de P_4 , los niveles de E_2 y P_4 se elevan por primera vez, luego decae la acción de la P_4 e impide la maduración del nuevo folículo. Ambas hormonas preparan la pared uterina para la implantación y crecimiento del embrión, en caso de que ocurra el embarazo²⁴⁴.

El ciclo estral regular tiende a convertirse en irregular y se caracteriza por el número de días en estro o diestro, por los 15 o 24 meses de edad, en ratas hembra se muestra un constante síndrome estral o persiste la fase de estro, caracterizada por el desarrollo y la secreción de estradiol en ausencia de picos de LH y ovulación²¹².

En algunas circunstancias, puede aparecer el anestro, que ocurre cuando los ovarios se inactivan sin una maduración folicular, este fenómeno se observa durante el embarazo o al final de la vida reproductiva²¹².

La maduración sexual ocurre entre 6 a 8 semanas, y aunque las ratas ovulen espontáneamente, la activación del cuerpo lúteo depende de mecanismos físicos como la estimulación del el área vaginocervical, la cual se asocia con el coito, pero puede llegar a ocurrir en procedimientos de laboratorio mal realizados como en la obtención de células del epitelio vaginal²⁴². Dando como resultado una condición hormonal y psicológica conocida como pseudoembarazo, inducido por la secreción de P_4 del cuerpo lúteo²⁴³, que exhibe los mismos mecanismos endocrinos del inicio de la fase normal del embarazo, esta condición dura cerca de 12 horas, por lo que conlleva a un retraso en el siguiente ciclo estral²¹².

Las ratas viejas, de 2 o 3 años, exhiben un estado anestro caracterizado por ovarios atróficos. Los patrones de secreción hormonal en hembras viejas, se encuentran en una fase constante de estro o anestro, que difiere del ciclo de maduración normal en ratas, principalmente porque no hay sobrecargas cíclicas de gonadotropinas, E_2 , P_4 , y PRL²¹². Esta es una evidencia de que la hipófisis y ovarios en ratas hembras viejas disminuyen la respuesta de la estimulación por GnRH y gonadotropinas, respectivamente, de la madurez regular del ciclo estral en ratas²⁴⁵.

3.2.4 Citología vaginal

Los estadios del ciclo estral pueden determinarse por examinación de los cambios morfológicos de las células del epitelio vaginal, bajo la luz del microscopio. Usualmente por un lavado vaginal, utilizando solución salina de 0.9 %²⁴¹.

Algunos aspectos importantes a considerar en la citología del ciclo estral en roedores son: La fecha y duración del último estro, el número de gestaciones, la aplicación de fármacos u hormonas, el tipo de alimentación y el frotis vaginal²⁴⁴.

En el frotis vaginal durante el proestro se encuentran sobretodo células epiteliales largas y nucleadas ocasionalmente cornificadas.

En estro, predominan las células epiteliales cornificadas, puede haber leucocitos y se presenta mucho moco.

En metaestro se encuentran pocos leucocitos, moco, y algunas células epiteliales tanto nucleadas como cornificadas.

En diestro predominan los leucocitos (linfocitos, monocitos, basófilos, acidófilos y neutrófilos) y hay algunas células epiteliales. También es posible encontrar eritrocitos (huecos) con bordes crenados y células plasmáticas (con núcleo de “rueda”, excéntrico), como se muestra en la figura 13.

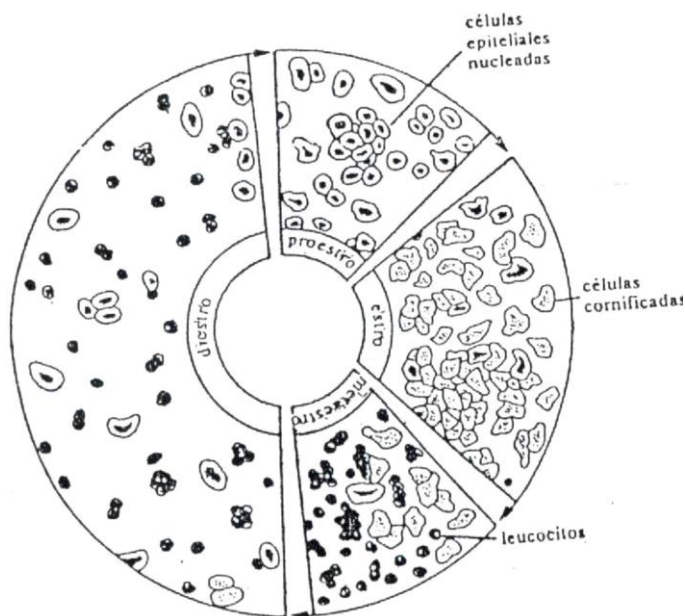


Figura 13: Tipos celulares presentes durante las diferentes fases del ciclo estral. (Tomado de Hernández P. E., et al)²⁴⁴.

3.3 Diferencia sexual en la depresión

Los estrógenos son un grupo de hormonas gonadales con diversas funciones fisiológicas, incluidas las que se relacionan con los estados afectivos, cumpliendo un papel importante en la modulación de las funciones cerebrales que producen una modificación en el estado de ánimo y de la conducta^{231,245}, como por ejemplo en la depresión²⁴⁶⁻²⁴⁸.

Las fluctuaciones hormonales, como la etapa premenstrual^{248,249}, el puerperio^{248,249} y la perimenopausia^{249,250}, se encuentran asociadas porque son periodos donde se presenta una mayor vulnerabilidad a la depresión^{250,251}.

Durante la menopausia los episodios de depresión se asocian con la caída de los niveles de E₂, en mujeres postmenopáusicas, la eliminación de la terapia de reemplazo hormonal lleva a cuadros depresivos^{246,247}, asociados a los cambios en los niveles de esteroides sexuales, como los estrógenos, estos ejercen una modulación importante en las funciones cerebrales que producen una modificación en el estado de ánimo y de la conducta^{245,247}.

Después de un año de amenorrea, en la post-menopausia la mujer presenta un perfil hormonal que se caracteriza por niveles plasmáticos bajos de estrógenos y progestinas y altos niveles de FSH y LH^{252,253}, presentando trastornos afectivos tales como la depresión^{253,254}.

Mujeres con un historial de cuadros depresivos, cuentan con niveles plasmáticos elevados de FSH y bajos niveles de E₂, por lo que la depresión perimenopáusica se asocia a la disminución de la actividad ovárica²⁵⁵.

En mujeres sin antecedentes de depresión, se encontró asociación entre los síntomas de depresión con niveles plasmáticos elevados de FSH y LH y la variabilidad en los niveles de estrógenos²⁵⁶, la intensidad de los síntomas depresivos y los síntomas vasomotores de la perimenopausia podrían estar asociados a altos niveles plasmáticos de FSH²⁵⁷.

El estradiol es de gran utilidad en el tratamiento de los síntomas de la depresión postparto, estudios electrofisiológicos²⁵⁸ y de unión de ligando²⁵⁹, mostraron que los estrógenos pueden modular la neurotransmisión noradrenérgica a nivel del SNC, la cual se lleva a cabo a través de la síntesis y liberación de NA y en la regulación de sus receptores; se ha observado que el E₂ administrado en ratas hembra ovariectomizadas (OVX) aumenta la frecuencia de disparo de las neuronas noradrenérgicas que se proyectan hacia el APO y el área hipotalámica anterior.

El E₂, el DES y el mestranol redujeron la densidad de receptores α -adrenérgicos en estructuras como el hipotálamo, la corteza frontal y el núcleo del tracto solitario²⁵⁹⁻²⁶². El E₂ aumenta la actividad de los receptores α_1 en neuronas del área preóptica, y disminuye la expresión del ARNm para el receptor α_2 ²⁵⁸; el tratamiento crónico con E₂ reduce la respuesta de los receptores β -adrenérgicos²⁶³.

En la recaptura, síntesis y metabolismo de NA, estudios in vitro han mostrado que E₂, EE₂, DES y otros estrógenos como el 2-hidroxi-EE₂ (2-OH-EE₂) y el 2-hidroxi-E₁ (2-OHE) inhiben los sitios de recaptura de NA en sinaptosomas de la corteza cerebral y del hipotálamo de la rata²⁶⁴, lo que tiene como consecuencia un aumento en los niveles de NA en el espacio sináptico. La administración aguda de E₂ a ratas OVX disminuye la tasa de recaptura de NA en el hipotálamo²⁶⁵ e incrementa los niveles del ARNm de la tirosina hidroxilasa en el locus coeruleus, aumentando así los niveles de NA²⁶⁶.

De igual manera, se ha reportado que los estrógenos aumentan los niveles de NA y otras monoaminas por inhibición de la actividad de la MAO²⁶⁷. También se ha observado que los estrógenos, como el E₂ y el EE₂, administrados por vía subcutánea o en estructuras cerebrales específicas como en el hipocampo y la corteza²⁶¹ presentan efectos antidepressivos^{255-257,268}. Este efecto es de larga duración, ya que se mantiene de 48 a 72 h²⁶⁹, y se relaciona con los receptores a estrógenos, ya que la administración de antagonistas específicos a estos receptores, bloquea su efecto antidepressivo^{262,270}.

Estudios con ratones knockout del receptor ERβ²⁷¹ y con moduladores selectivos de estos receptores, como el coumestrol o el diarilpropionitrilo, apoyan la participación de los receptores ERβ en la regulación de las conductas depresivas²⁷².

En modelos animales la exposición crónica a la nicotina produce alteración en los sistemas de estrés, por lo que la eliminación de la exposición crónica de la nicotina, produce un síndrome de abstinencia que muestra efectos negativos, tanto físicos como afectivos.

Las ratas hembra adultas son más sensibles a estos efectos, ya que presentan mayor ansiedad que los machos después de la administración oral o IV de nicotina²⁷³, así como la presencia de mayores signos y síntomas físicos de abstinencia a la nicotina en comparación con machos²⁷⁴.

También se ha observado que las ratas hembra adolescentes muestran un aumento en el consumo de nicotina al entrar en la edad adulta, un efecto que no es observado en machos²⁷⁵.

Las hembras son diferentes de los machos con respecto al papel que juegan los estrógenos y los sistemas de estrés sobre la transmisión de DA en el sistema mesocorticolímbico.

Los estados hedónicos inducidos por nicotina activan los cambios del sistema encargado del factor liberador de corticotropina (CRF), que se sensibilizan a la exposición continua de nicotina. En las mujeres se centra en los circuitos dentro del NAcc que regula la DA y la liberación de CRF en esta región, por lo que los efectos de la nicotina se modulan, en gran parte, por la transmisión de DA en la vía mesocorticolímbica^{276,277}.

Ésta se origina en el VTA y termina en la corteza frontal, entre otras estructuras como la amígdala y el NAcc, por lo que el sistema de recompensa de la nicotina se encuentra

mediada en gran parte por dopamina en el NAcc²⁷⁸, por lo que la DA en el NAcc es importante para la regulación del sistema de recompensa de la nicotina y la abstinencia de esta.

Para explicar las diferencias sexuales en los efectos gratificantes de la nicotina se pensó en un mecanismo en donde se inicia aumentando los niveles de DA en el NAcc²⁷⁹.

Los receptores de E₂ son localizados en los terminales locales de las neuronas del estriado mediano espinoso que tienen colaterales recurrentes en terminales de DA, inhibiendo la actividad de las neuronas de esta región que modulan la DA, estas neuronas son principalmente GABAérgicas, por lo que los efectos inhibitorios del E₂ disminuyen los niveles de GABA mediante una reducción de las corrientes de calcio.

Por lo que existe una respuesta disminuida de GABA en las terminales de DA, que resulta en una mayor estimulación y liberación de DA en el NAcc. El E₂ puede actuar directamente sobre las terminales de DA para regular a los auto-receptores²⁸⁰. Se observa un aumento de los niveles de DA estriatal y en el NAcc en presencia de E₂, inducida por la administración de nicotina en hembras, pero no en machos^{281,282}.

Los niveles de DA en el NAcc se reducen a una mayor extensión en ratas adultas vs adolescentes²⁸³. Estos datos sugieren que el NAcc modula la dependencia y las diferencias producidas por la abstinencia de la nicotina y los cambios en la transmisión de DA producida por abstinencia en mujeres, se encuentra potenciado por el sistema de estrés dentro del NAcc, y el E₂ puede potenciar estos efectos en las mujeres en comparación con los hombres²⁸².

Los niveles de ARNm de CRF son más altos en el hipotálamo de ratas hembra vs ratas macho, así mismo los niveles de E₂ son más altos en durante la fase de proestro^{281,285}. La activación directa de los receptores (ERβ) también aumenta la expresión de ARNm de CRF in vitro^{281,286}.

La recompensa y los efectos aversivos se modulan a través de las neuronas espinosas de sistema gabaérgico, que inhiben la liberación de dopamina en el NAcc²⁸⁷.

Los efectos gratificantes de la nicotina en ratas adolescentes muestran mayores efectos que en ratas hembra adultas.

Durante la adolescencia existe una mayor influencia glutamatérgica excitatoria en la corteza²⁸⁸⁻²⁹⁰ e influencias inhibitoras disminuidas del sistema GABAérgico²⁹¹⁻²⁹³.

La nicotina produce una regulación positiva del gen de CRF y en la expresión en el NAcc de una mujer adulta, pero no en ratas adolescentes²⁷⁴, también se ha mostrado que el GABA y el glutamato en los sistemas de VTA en la modulación de las diferencias de edad a la nicotina. El estrés es un factor crítico que modula las diferencias sexuales a la nicotina.

Durante la adolescencia, GABA y glutamato promueven la recompensa por la nicotina al mismo tiempo en que protegen contra las consecuencias negativas de esta. Al llegar a la edad adulta, los sistemas que promueven la recompensa de la nicotina están plenamente regulados por los estrógenos, los cuales modulan la liberación de DA en el NAcc.

Analizando otros experimentos se encontró que los inhibidores de la MAO promueven los efectos antidepresivos de la nicotina en ratas adolescentes, y con respecto a las diferencias de sexo, presentan mayor sensibilidad a la inhibición de la MAO-B después de la administración de L-deprenil, por lo que la inhibición de la MAO puede contribuir a los efectos antidepresivos del tabaco, lo que promueve el hábito de fumar en las mujeres.

En hembras se presenta mayor sensibilidad a la inhibición de la MAO-B., lo que puede contribuir a los efectos antidepresivos del tabaco, promoviendo el hábito de fumar en las mujeres²⁹⁴.

En machos y hembras, la aparición de los diversos receptores (nAChRs) es diferente durante su desarrollo y en la expresión de las propiedades funcionales de estas subunidades, por lo que existen diferencias de comportamiento en adolescentes y adultos al consumir nicotina²⁹⁵.

Los efectos a la exposición de nicotina en adolescentes, se da por la regulación colinérgica, en la liberación de los NT, supervivencia de las neuronas, supervivencia celular y sinaptogénesis²⁹⁶.

Las hembras exhiben mayores densidades de nAChR en diversas regiones cerebrales, la exposición crónica de nicotina produce una mayor regulación positiva en estas regiones, en ratas macho que en hembras, tanto en ratas como en ratones²⁹⁷.

Existen algunos aspectos que se deben considerar al comparar las diferencias de sexo entre los modelos del uso de nicotina, ya que en hembras las hormonas ováricas como el estrógeno y la progesterona fluctúan a lo largo del ciclo estral en roedores adultas²⁹⁸.

Por lo que a la mayoría de las ratas hembra utilizadas en los experimentos para evaluar depresión se les ovariectomiza (OVX), para lograr tener un mejor control sobre los niveles hormonales, lo cual es un procedimiento que no permite evaluar las condiciones hormonales normales en un modelo experimental con ratas.

En experimentos con ratas OVX, después de ser sometidas a un tratamiento de reemplazo con hormonas ováricas tales como el estrógeno, progesterona o ambas, algunos procedimientos alteran el comportamiento similar a la ansiedad²⁹⁹ y suprimen los sistemas de DA²⁹⁷. Además, las ratas hembra tienen una mayor proporción de grasa y músculo que los machos, por lo que la absorción, eliminación y metabolismo de la nicotina es distinta, sin embargo presentan tasas más rápidas de adquisición IV de nicotina³⁰⁰.

Los efectos gratificantes de la nicotina se mejoran en roedores hembras en comparación con machos³⁰¹⁻³⁰³.

Los efectos aversivos de la nicotina son similares en ratas hembra OVX y machos, por lo que las hormonas ováricas protegen contra los efectos aversivos y facilitan los efectos gratificantes de la nicotina³⁰⁴.

En otro experimento con ratas hembras OVX y machos donde se les administró nicotina y estradiol, por separado y en conjunto, se encontró que la prueba parece ser sensible al efecto de las hormonas de origen gonadal, ya que el tratamiento con ambos disminuye la inmovilidad en la PNF, en otros experimentos también se ha observado que las progestinas o estrógenos reducen la conducta de inmovilidad.

La PNF es sensible al efecto de las hormonas de origen gonadal, ya que el tratamiento con progestinas o estrógenos reduce la conducta de inmovilidad en las hembras OVX^{305,306}.

En las hembras predomina la conducta de nado, mostrándose una mayor sensibilidad a las acciones del E₂, mientras que en los machos el tratamiento con E₂ incrementó la conducta de nado y escalamiento²⁹¹.

Es posible que en machos, a diferencia de las hembras, se produzca la activación de ambos sistemas de neurotransmisión, serotoninérgico y noradrenérgico²⁹³, lo que contrasta el efecto de E₂ sobre el ARNm de las enzimas limitantes para la producción de 5-HT y NA³⁰⁷. Se ha demostrado que el E₂ facilita el efecto antidepresivo de la desipramina y la fluoxetina, al producir menor conducta de inmovilidad y mayor expresión de las conductas activas.

Con base a los resultados se demostró que la administración de nicotina y hormonas como tratamiento antidepresivo en mujeres que se encuentran durante los períodos con bajos niveles de estrógeno, podría ser benéfico para mejorar el estado de ánimo, así como los signos/síntomas de la depresión³⁰⁸.

En la PNF se apoya la idea de que los estrógenos inducen efectos antidepresivos a través de la modulación de la transmisión noradrenérgica, ya que se ha observado que el EE₂ presenta un perfil conductual similar a los antidepresivos mixtos de la recaptura de noradrenalina y de serotonina, como la duloxetina y la venlafaxina^{309,310}.

El EE₂ facilita el efecto antidepresivo de la desipramina, que es un inhibidor selectivo de la recaptura de NA³¹⁰.

La interacción del EE₂ con el sistema noradrenérgico podría ser mediada por receptores α_2 -adrenérgicos ya que el idazoxan, un antagonista selectivo de estos receptores, es capaz de bloquear el efecto tipo antidepresivo inducido por EE₂. Se encontró que el 5,7-DHT, DSP4, los cuales destruyen las terminales serotoninérgicas y noradrenergicas, funciona como un

antagonista para los RE en hembras OVX, bloqueando el efecto antidepresivo del EE₂ en la PNF³¹¹.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los experimentos con modelos animales, tales resultados contrastar con lo que se ha observado en humanos. En vista de que al igual que en modelos animales el efecto antidepresivo se relaciona con una activación del sistema serotoninérgico y noradrenérgico, y su acción directa sobre los receptores a estrógenos, promueve el comportamiento de recaída en mujeres en comparación con los hombres.

El consumo de nicotina en mujeres, se debe a las características fisiológicas en los efectos gratificantes que ofrece, que es mediada en parte por los estrógenos los cuales facilitan la liberación de DA en regiones terminales de la vía mesocorticolímbica (sistema dopaminérgico)^{282,312}.

En mujeres jóvenes en especial durante la adolescencia, estas son más propensas a iniciar con el hábito de fumar, asimismo les cuesta más trabajo dejar este hábito que a los hombres^{200,313,314}, y son más sensibles a efectos gratificantes de la nicotina que los hombres^{291,299,308,313-317}. También muestran mayores niveles de ansiedad^{290,291,305}, estrés^{306,318,319} y depresión, que los hombres³⁰⁹.

Debido a estos resultados, es que se les atribuye un mayor consumo de nicotina a las mujeres en comparación con los hombres^{287,288}, y se muestra un aumento en el consumo de nicotina a medida que envejecen, ya que los niveles de estrógeno se modifican totalmente^{275,307}.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el modelo animal de depresión de la Prueba de Porsolt (PNF) la nicotina disminuye el estado depresivo en machos, sin embargo, su efecto en hembras intactas no se ha caracterizado. Determinar el efecto antidepresivo de la nicotina en hembras es importante debido a que el estado anímico se ha relacionado con los cambios en los niveles de estrógenos y progesterona, y no se ha establecido la interacción entre dichas hormonas y la nicotina. Por lo tanto, este trabajo está diseñado tanto para determinar si existen diferencias sexuales del efecto de la nicotina sobre la inmovilidad en la prueba de Porsolt, como para determinar si existe interacción de la nicotina con las hormonas sexuales femeninas, cuyos niveles son diferentes encada una de las fases del del ciclo estral.

HIPÓTESIS

El efecto antidepresivo de la administración de nicotina en las ratas hembra dependerá de la fase del ciclo estral en que se encuentren, además de que se espera se sume a las propiedades antidepresivas del estradiol y así tendrá un efecto mayor en las hembras en proestro/estro, con lo cual requerirá una dosis menor de nicotina para mostrar una disminución en la inmovilidad.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar si la administración de dosis efectivas y no efectivas de nicotina son capaces de disminuir la inmovilidad en la prueba de Porsolt (PNF) en ratas hembras sobre diferentes fases del ciclo estral.

Objetivos específicos

- Reproducir la disminución de inmovilidad inducida con nicotina con la dosis reportada en ratas macho.
- Determinar si la disminución de la inmovilidad inducida por la dosis reportada de nicotina se presenta con un protocolo de la prueba de Porsolt modificado para un solo día.
- Determinar si dosis menores a la dosis reportada tienen efecto antidepresivo en las ratas macho para así obtener la dosis máxima no efectiva y la mínima efectiva.
- Realizar frotis vaginales para determinar el estadio estral en las ratas hembra.
- Administrar la dosis mínima que tuviera efecto en machos, en las ratas hembra durante las fases de proestro, estro, diestro 1 y diestro 2.
- Administrar la dosis máxima que no tuviera efecto en machos, en las ratas hembra durante las fases de proestro, estro, diestro 1 y diestro 2.

METODOLOGÍA

Diseño de estudio

Es un estudio analítico, experimental, retroproyectivo, transversal y comparativo

Población

Para realizar los experimentos se utilizaron ratas hembra de la cepa Wistar de 2 a 4 meses de edad, de entre aproximadamente 225-275g, provenientes del bioterio de la UAM-Iztapalapa.

Los sujetos de estudio se mantuvieron en los cuartos de animales del laboratorio de Neuroendocrinología Conductual del Área de Investigación en Neurociencias del Departamento de Biología de la Reproducción, UAM-I. Los animales se mantuvieron en cuartos con temperatura e iluminación (12 horas luz / 12 horas oscuridad) controladas y alimentación y agua *ad libitum*.

Para la evaluación del estado depresivo se utilizó la prueba de Porsolt o nado forzado.

El manejo de los animales y los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de la DCBS de la UAM-Iztapalapa y siguieron la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Variables

Dependiente

- ✓ Movilidad

Independiente

- ✓ Sexo
- ✓ Ciclo estral
- ✓ Edad
- ✓ Peso

Prueba de Porsolt o nado forzado (PNF)*

Esta prueba consiste en dos etapas, una preprueba de 15 minutos y una prueba de 5 minutos.

Las pruebas consistieron en colocar a los sujetos en un recipiente de 40 cm de altura y 20 cm de diámetro, a la que se colocó agua hasta una altura de 18 cm. Se introdujo al sujeto experimental y se registraron los eventos presentados en la prueba de los 5 minutos en un intervalo de 5 segundos (Eventos / intervalos (#/5 min), dando un total de 60 eventos en 5 minutos que consistieron en el total de la duración de la prueba.

Entre los cuales se presentaron conductas de nado, buceo, escalamiento e inmovilidad.

Tomándose en cuenta para los resultados, los eventos presentados de inmovilidad la cual es la conducta de depresión o desesperanza aprendida.

Al finalizar las pruebas los sujetos fueron retirados del recipiente y secados con una toalla, posteriormente se devolvió el animal a su caja.

Frotis vaginal**

Se tomó una muestra por lavado del epitelio vaginal de la rata con el apoyo de una pipeta pasteur con solución salina 0.9% NaCl, la boquilla de la pipeta se introdujo ligeramente en la apertura vaginal y se administró la solución salina y se recupera inmediatamente.

La muestra obtenida se colocó sobre un portaobjetos y se observó la citología vaginal bajo el microscopio óptico (40x), para determinar el estadio del ciclo estral (proestro, estro, diestro 1 y diestro 2), y con ello se realizó la selección de las ratas hembras para llevar a cabo los experimentos #4 y #5, correspondientes a la dosis mínima efectiva y la dosis máxima no efectiva.

Fármaco utilizado: (-)-Nicotine ditartrate, tartrato de nicotina.

Para los experimentos realizados se utilizó este fármaco, pero para fines prácticos simplemente se le llamó “nicotina”. Tratándose éste de un fármaco con uso recomendado solo para investigación, y no se encuentra destinado para diagnóstico o uso terapéutico. Con un peso molecular de 462.44 g/mol + 2H₂O, y presenta la siguiente fórmula: C₁₀H₁₄N₂•2C₄H₆O₆

RBI Research Biochemicals Incorporated

N-109

Toxic

Store at RT

Lote: S-792D

Experimento #1. Efecto antidepresivo de la nicotina en machos para la validación de la prueba en 24h (0.4 mg/kg)

Se tomaron ratas macho de la cepa wistar, los cuales se dividieron en 2 grupos.

Un grupo control con solución salina (n=9) y un grupo con tratamiento de nicotina 0.4 mg/Kg (n=9).

Se les pesó para determinar la dosis administrada en cada individuo, y posteriormente se les realizó la PNF*, iniciando con la preprueba de una duración de 15 minutos.

Al día siguiente se les administró la inyección por vía intraperitoneal (IP) y a los 10 minutos de la administración, se les realizó la prueba durante 5 min.

Experimento #2 Efecto antidepresivo de la nicotina en machos para validación de la prueba en 4h (Dosis mínima efectiva 0.4 mg/kg)

Se tomaron ratas macho de la cepa wistar, los cuales se dividieron en 2 grupos.

Un grupo control con solución salina (n=11) y un grupo con tratamiento de nicotina 0.4 mg/Kg (n=9).

Se les pesó para determinar la dosis administrada en cada individuo, y posteriormente se les realizó la PNF*, iniciando con la preprueba de una duración de 15 minutos.

Cuatro horas después se les administró la inyección por vía intraperitoneal (IP) y a los 10 minutos de la administración, se les realizó la prueba durante 5 min.

Experimento #3 Ausencia del efecto antidepresivo de la nicotina en machos en 4h (Dosis máxima no efectiva 0.3 mg/kg)

Se tomaron ratas macho de la cepa wistar, los cuales se dividieron en 2 grupos.

Un grupo control con solución salina (n=11) y un grupo con tratamiento de nicotina 0.3 mg/Kg (n=9).

Se les pesó para determinar la dosis administrada en cada individuo, y posteriormente se les realizó la PNF*, iniciando con la preprueba de una duración de 15 minutos.

Cuatro horas después se les administró la inyección por vía intraperitoneal (IP) y a los 10 minutos de la administración, se les realizó la prueba durante 5 min.

Experimento #4. Efecto de la nicotina sobre ratas hembra en 4h (Dosis mínima efectiva 0.4 mg/kg)

Se les tomó el frotis vaginal a ratas hembras de la cepa wistar, con el cual se determinó su estadio estral (proestro, estro, diestro 1 y diestro 2)**.

Se dividieron en 2 grupos por cada estadio del ciclo estral.

Un grupo control con solución salina y un grupo con tratamiento de nicotina 0.4 mg/Kg.

Se les pesó para determinar la dosis administrada en cada individuo, y posteriormente se les realizó la PNF*, iniciando con la preprueba de una duración de 15 minutos.

Cuatro horas después se les administró la inyección con la dosis máxima no efectiva, por vía intraperitoneal (IP) y a los 10 minutos de la administración, se les realizó la prueba durante 5 min.

Experimento #5. Efecto de la nicotina sobre ratas hembra en 4h (Dosis máxima no efectiva 0.3 mg/kg)

Se les tomó el frotis vaginal a ratas hembras de la cepa wistar, con el cual se determinó su estadio estral (proestro, estro, diestro 1 y diestro 2)**.

Se dividieron en 2 grupos por cada estadio del ciclo estral.

Un grupo control con solución salina y un grupo con tratamiento de nicotina 0.3 mg/Kg.

Se les pesó para determinar la dosis administrada en cada individuo, y posteriormente se les realizó la PNF*, iniciando con la preprueba de una duración de 15 minutos.

Cuatro horas después se les administró la inyección con la dosis máxima no efectiva, por vía intraperitoneal (IP) y a los 10 minutos de la administración, se les realizó la prueba durante 5 min.

Diseño estadístico

Los datos de inmovilidad para machos en los experimentos #1, #2 y #3; fueron analizados con el programa SPSS IBM 2.0, se les aplicó la prueba de t-student para grupos independientes para determinar diferencias significativas.

(Paramétrica – Cuantitativa – Normalidad – Con 2 grupos – Muestras independientes: t-student)

Los datos de inmovilidad para hembras en los experimentos #4 y #5; fueron analizados con el programa GB-STAT versión 7.0, con ANOVA de un factor para grupos independientes, aplicándose la prueba de Newman-Keuls para determinar diferencias significativas.

(Paramétrica – Cuantitativa – Normalidad – Con 3 o más grupos – Muestras independientes: ANOVA de un factor)

Experimento #1. Efecto antidepresivo de la nicotina en machos para la validación de la prueba en 24h (0.4 mg/kg)
Experimento #2. Efecto antidepresivo de la nicotina en machos para validación de la prueba en 4h (0.4 mg/kg)
Experimento #3. Ausencia del efecto antidepresivo de la nicotina en machos en 4h (con la dosis máxima no efectiva 0.3 mg/kg)

Experimento #4. Efecto de la nicotina sobre ratas hembra en 4h con dosis mínima efectiva (0.4 mg/kg)
Experimento #5. Efecto de la nicotina sobre ratas hembra en 4h con dosis máxima no efectiva (0.3 mg/kg)

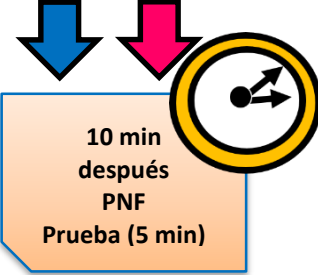
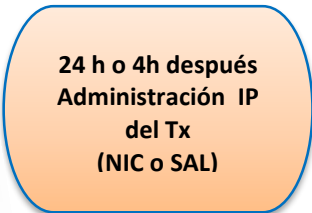
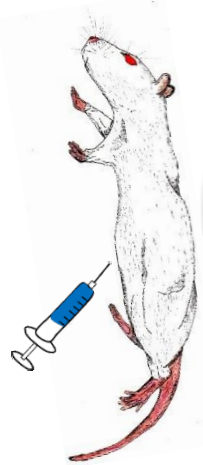
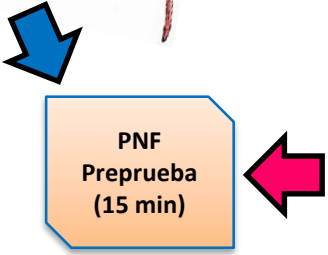
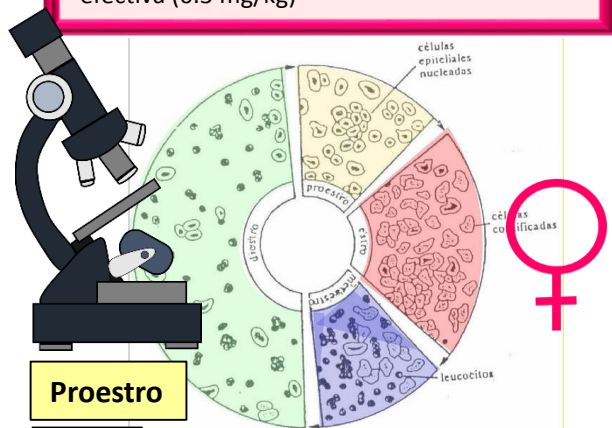
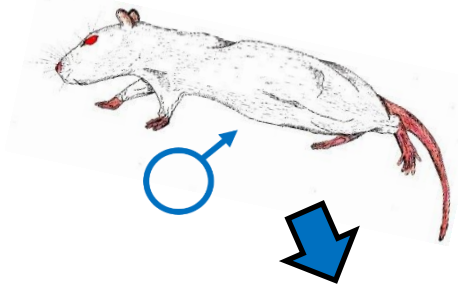


Figura 14. Esquema de la metodología realizada para los experimentos #1, #2, #3 con ratas macho y experimentos #4 y #5 con ratas hembra.

RESULTADOS

En la figura 15, se muestra el experimento correspondiente a la validación de la PNF con 24 horas de diferencia entre la preprueba y la prueba.

El tratamiento agudo con la dosis reportada previamente de tartrato de nicotina (NIC, 0.4 mg/Kg) (posteriormente se observó que esta dosis era la dosis mínima efectiva y así se menciona a lo largo de este texto) disminuyó la inmovilidad en las ratas macho [“t” de Student=-4.978, $p<0.05$].

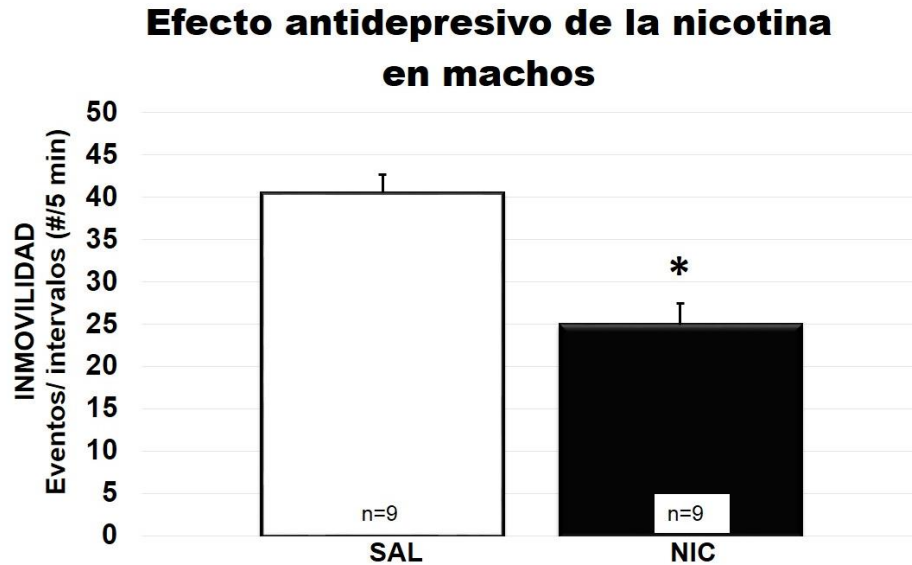


Figura 15. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en machos tratados con salina (SAL) y con dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina (NIC, mínima efectiva). La prueba se realizó 24 horas después de la preprueba. $p \pm$ error estándar. * $p<0.05$, con respecto a salina.

En la figura 16, se muestran los resultados de la validación de la PNF con 4 horas de diferencia entre la preprueba y prueba.

El tratamiento agudo con la dosis mínima efectiva de tartrato de nicotina (NIC, 0.4 mg/Kg) disminuyó la inmovilidad en las ratas macho [“t” de Student=-1.778, $p<0.05$].

En ambos experimentos con machos la nicotina fue capaz de revertir el estado depresivo inducido por los 15 minutos de nado forzado de la preprueba.

Efecto antidepresivo de la nicotina en machos

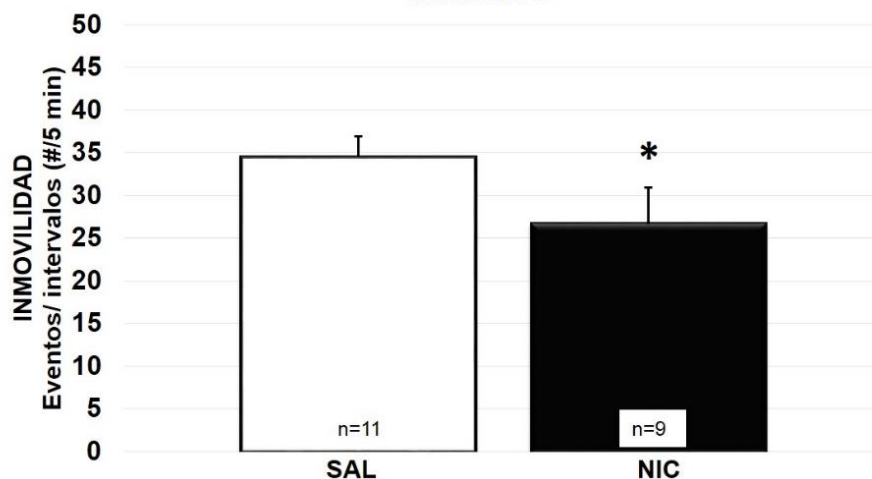


Figura 16. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en machos tratados con salina (SAL) y con dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina (NIC, mínima efectiva). La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba. $p \pm$ error estándar. * $p < 0.05$, con respecto a salina.

En la figura 17, se muestran los resultados de la administración aguda de una dosis menor de NIC (0.03 mg/kg) en ratas machos sobre la inmovilidad en la PNF. La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba.

Esta dosis fue inefectiva [t de Student = -0.928, $p > 0.05$], no produjo ningún cambio en la movilidad de las ratas macho.

Ausencia del efecto antidepresivo de la nicotina en machos

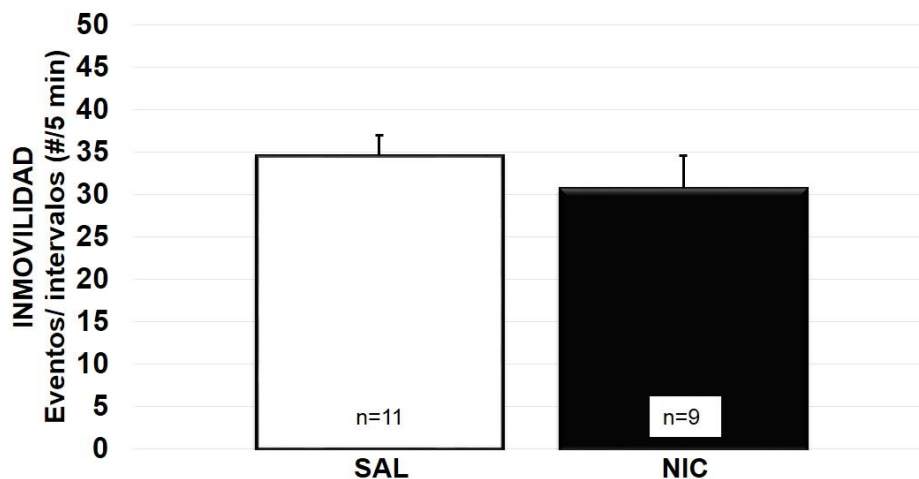


Figura 17. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en machos tratados con salina (SAL) y con dosis de 0.3 mg/Kg de nicotina (NIC, máxima no efectiva). La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba.

En la figura 18, se muestran los resultados de la inmovilidad en ratas hembra en proestro durante la PNF con la administración aguda de las dos dosis utilizadas (0.3 y 0.4 mg/Kg) de NIC.

El tratamiento agudo con ambas dosis de NIC no modifican la inmovilidad en ratas hembras en la fase de estro [$F_{(2,32)}=2.34$, $p=0.11$].

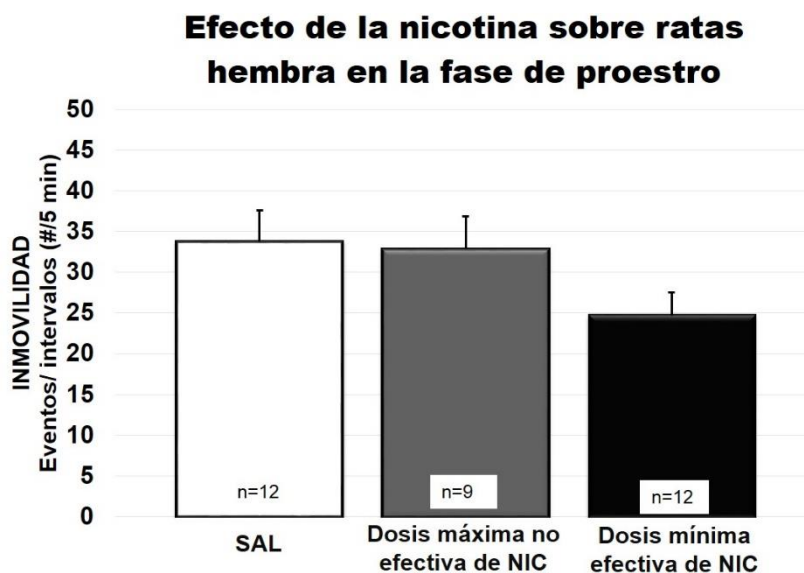


Figura 18. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en hembras durante la fase de proestro, tratadas con salina (SAL), dosis de 0.3 mg/Kg de nicotina (NIC, máxima no efectiva) y dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina (NIC, mínima efectiva). La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba.

En la figura 19, se muestran los resultados de la inmovilidad en ratas hembra en estro durante la PNF con la administración aguda de las dos dosis utilizadas (0.3 y 0.4 mg/Kg) de NIC.

El ANOVA mostró diferencias significativa entre los grupos [$F_{(2,32)}=3.64$, $p=0.0385$; Newman-Keuls $\dagger p<0.05$], el análisis poshoc mostró una disminución de la inmovilidad de la dosis mínima efectiva únicamente con respecto a la dosis máxima no efectiva.

Efecto de la nicotina sobre ratas hembra en la fase de estro

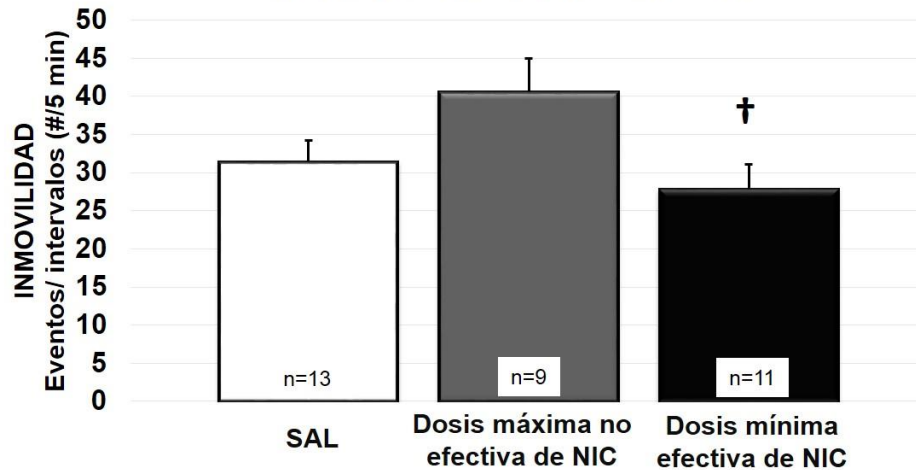


Figura 19. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en hembras durante la fase de estro, tratadas con salina (SAL), dosis de 0.3 mg/Kg de nicotina (NIC, máxima no efectiva) y dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina (NIC, mínima efectiva). La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba. ANOVA seguido de la prueba de Newman Keuls, † p<0.05, con respecto a dosis de 0.3 mg/Kg de nicotina (NIC, máxima no efectiva).

En la figura 20, se muestran los resultados de la inmovilidad en ratas hembra en diestro 1 durante la PNF con la administración aguda de las dos dosis utilizadas (0.3 y 0.4 mg/Kg) de NIC.

El tratamiento agudo con ambas dosis de NIC no modifican la inmovilidad en ratas hembras en la fase de estro [$F_{(2,30)}=2.61, p=0.092$].

Efecto de la nicotina sobre ratas hembra en la fase de diestro 1

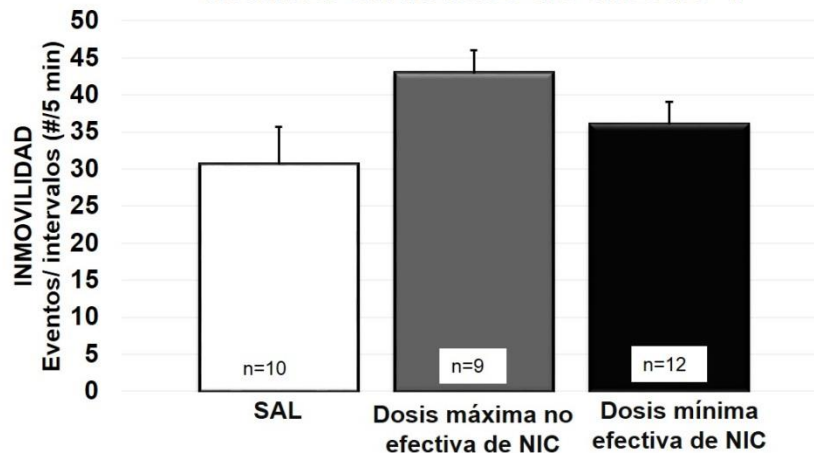


Figura 20. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en hembras durante la fase de diestro 1, tratadas con salina (SAL), dosis de 0.3 mg/Kg de nicotina (NIC, máxima no efectiva) y dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina (NIC, mínima efectiva). La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba.

En la figura 21, se muestran los resultados de la inmovilidad en ratas hembra en diestro 2 durante la PNF con la administración aguda de las dos dosis utilizadas (0.3 y 0.4 mg/Kg) de NIC.

El ANOVA mostró diferencias significativa entre los grupos [$F_{(2,28)}=5.75$, $p=0.008$; Newman-Keuls $*p<0.05$], el análisis poshoc mostró una disminución de la inmovilidad de la dosis mínima efectiva únicamente con respecto a salina.

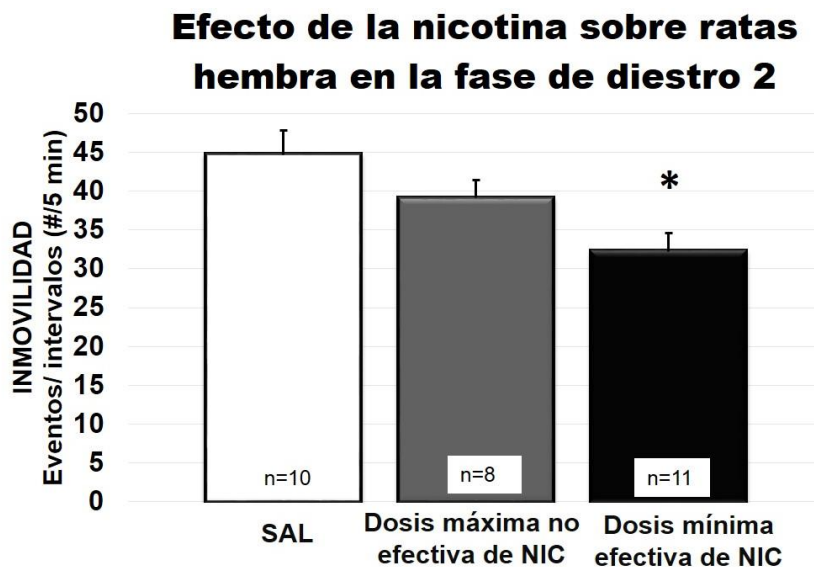


Figura 21. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en hembras durante la fase de diestro 2, tratadas con salina (SAL), dosis de 0.3 mg/Kg de nicotina (NIC, máxima no efectiva) y dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina (NIC, mínima efectiva). La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba. ANOVA seguido de la prueba de Newman Keuls, $* p<0.05$, con respecto a salina.

Los niveles de inmovilidad en las hembras control se observan en la figura 22, se muestra la inmovilidad en la PNF de las ratas hembras tratadas con solución salina (SAL) en las diferentes fases del ciclo estral.

El ANOVA mostró diferencias significativa entre los grupos [$F_{(2,44)}=3.13$, $p=0.0358$; Newman-Keuls $*p<0.05$], el análisis poshoc mostró un aumento en la inmovilidad durante la fase de diestro 2 con respecto a las fases de proestro y estro.

Tratamiento con solución salina sobre ratas hembra en las diferentes fases del ciclo estral

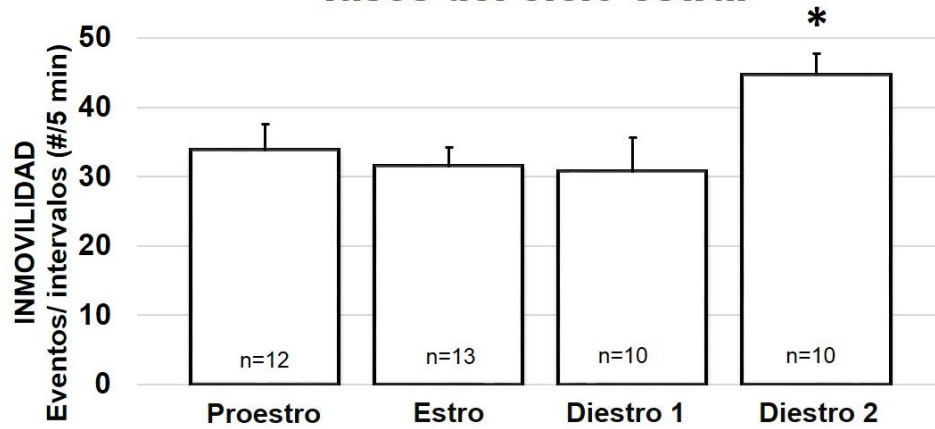


Figura 22. Inmovilidad en la prueba de nado forzado en hembras durante las diferentes fases del ciclo estral, tratadas con salina (SAL). La prueba se realizó 4 horas después de la preprueba. ANOVA seguido de la prueba de Newman Keuls, * $p < 0.05$, con respecto a proestro y estro.

DISCUSIÓN

En la figura 15, se muestra los resultados del experimento correspondiente a la validación de la PNF con 24 horas de diferencia entre la preprueba y la prueba.

El tratamiento agudo fue con la dosis reportada previamente de tartrato de nicotina (NIC, 0.4 mg/Kg)¹⁵⁶, los resultados validaron que este tratamiento disminuye la inmovilidad en las ratas macho.

En un experimento posterior se encontró que esta dosis corresponde a la dosis mínima efectiva, ya que es la dosis mínima que se necesita para observar un efecto antidepresivo de la nicotina en ratas macho.

En el segundo experimento, se pensó en la modificación al protocolo de la PNF, con el objetivo de comprobar la hipótesis propuesta acerca de que las hembras necesitarán menos nicotina que los machos. Por lo que se modificó el protocolo de la PNF a 4 horas entre preprueba y prueba, ya que en hembras las hormonas ováricas como el estrógeno y la progesterona fluctúan a lo largo del ciclo estral, que varía de un día a otro. De esta manera, la modificación a la PNF se realizó para evaluar el efecto antidepresivo de la nicotina en el mismo día, en el mismo estadio estral³⁰⁶.

En la mayoría de los estudios en investigación básica como en es el caso del modelo de la PNF, para evaluar el efecto antidepresivo de la nicotina o de cualquier otro fármaco, donde las ratas hembras se encuentran ovariectomizadas (OVX), este procedimiento se hace con el fin de lograr tener un mejor control sobre los nivel hormonales, pero no permite evaluar las condiciones hormonales normales en un modelo experimental con ratas.

Además de que con el protocolo de la PNF en 24 horas las fases del ciclo estral en las ratas hembra podrían verse alteradas (ocurrir una irregularidad en su ciclo estral) al inducirles depresión. Además de contar con una variable dependiente adicional al experimento que podría afectar los resultados así como su interpretación.

Es por ello que se realizó el experimento en machos para verificar/comprobar si esta modificación tendría los mismos resultados al evaluar el efecto antidepresivo de la nicotina (figura 16), en ambos experimentos la nicotina fue capaz de revertir el estado depresivo inducido por los 15 minutos de nado forzado de la preprueba.

En el siguiente experimento correspondiente a la figura 17, se realizó la administración aguda de una dosis menor de NIC (0.03 mg/kg) en ratas machos sobre la inmovilidad en la PNF.

Al igual que en el experimento previo, la prueba se realizó 4 horas después de la preprueba, los resultados muestran que esta dosis no fue efectiva, ya que no induce una disminución en la inmovilidad.

Debido a que fue una dosis cercana a la dosis efectiva (25% menor) se decidió nombrar a la dosis de 0.3 mg/Kg como la dosis máxima no efectiva y a la dosis de 0.4 mg/Kg como la dosis mínima efectiva.

Los experimentos anteriores validaron el modelo para evaluar el efecto antidepresivo de la NIC y por lo tanto se tenían las condiciones para probar la hipótesis, y se realizaron dos experimentos adicionales.

El experimento 4 es el experimento diseñado para probar la hipótesis, donde se determinó que la dosis máxima efectiva en machos tampoco fue efectiva en las hembras, independientemente del estadio estral.

Con ese experimento rechazamos la hipótesis y el experimento 5 fue un experimento adicional para determinar si la dosis efectiva en machos podría ser efectiva en las hembras también; sin embargo, los resultados mostraron que sólo fue efectiva en las hembras en diestro 2, y aparentemente en proestro pero no fue estadísticamente menor al control.

Para facilitar la comprensión los datos se presentan agrupados en cada una de las fases del ciclo estral (figuras 18 a 21) con ambas dosis. Además se presentan los resultados de la PNF únicamente en las hembras control (figura 22).

Como se mencionó, originalmente los experimentos fueron diseñados para probar la hipótesis de que las hembras necesitan una dosis menor de nicotina, sin embargo, los resultados mostraron que la dosis máxima no efectiva determinada en machos, tampoco fue efectiva en hembras.

Por ello se decidió probar si la dosis efectiva determinada en los machos en las hembras. Los resultados muestran que esta dosis de 0.4mg/Kg que funcionó en los machos es únicamente efectiva en las hembras que se encuentran en la fase de diestro 2.

Una de las características más asociadas al ciclo estral son los niveles circulantes de las hormonas estradiol y progesterona, en la figura 13 del marco teórico, se observan estas diferencias hormonales.

La PNF parece ser sensible al efecto de las hormonas de origen gonadal, ya que se ha visto en experimentos que el tratamiento con estradiol y nicotina, ya sea por separado o en conjunto, disminuye la inmovilidad, por lo que apoya la idea de que los estrógenos inducen efectos antidepresivos a través de la modulación de la transmisión noradrenérgica.

Los estrógenos, como el E₂ y el EE₂, administrados por vía subcutánea o en estructuras cerebrales específicas como en el hipocampo y sinaptosomas de la corteza^{261,264} presentan efectos antidepresivos^{255-257,268}, los cuales se relacionan con los receptores a estrógenos.

Éstos modulan la neurotransmisión noradrenérgica a nivel del SNC. El EE₂ se relaciona con los receptores α_2 -adrenérgicos³¹¹, ya que presenta un perfil similar a los antidepresivos mixtos de la recaptura de NA y de 5-HT^{309,310}.

En ratas OVX, el EE₂, aumenta la frecuencia de disparo de las neuronas noradrenérgicas que proyectan hacia el APO y al área hipotalámica anterior y también reduce la densidad de receptores α -adrenérgicos en estructuras como el hipotálamo, la corteza frontal y el núcleo del tracto solitario²⁵⁹⁻²⁶², y aumenta la actividad de los receptores α_1 en neuronas del APO y disminuye la expresión del ARNm para el receptor α_2 ²⁵⁸, mientras que su tratamiento crónico reduce la respuesta de los receptores β -adrenérgicos²⁶³.

El E₂, EE₂ y DES, entre otros estrógenos, inhiben los sitios de recaptura de NA en sinaptosomas de la corteza cerebral y del hipotálamo de la rata²⁶⁴, lo que tiene como consecuencia un aumento en los niveles de NA en el espacio sináptico. La administración aguda de E₂ a ratas OVX disminuye la tasa de recaptura de NA en el hipotálamo²⁶⁵ e incrementa los niveles del ARNm de la tirosina hidroxilasa en el locus coeruleus, aumentando así los niveles de NA²⁶⁶. También se ha descrito que los estrógenos aumentan los niveles de NA por inhibición de la actividad de la MAO²⁶⁷, y se ha observado que los inhibidores de la MAO promueven los efectos antidepresivos de la nicotina en ratas adolescentes, las hembras se presenta mayor sensibilidad a la inhibición de la MAO-B, lo que puede contribuir a los efectos antidepresivos de la nicotina²⁹⁴.

Además se ha mostrado que el E₂ facilita el efecto antidepresivo de algunos antidepresivos, al producir menor conducta de inmovilidad y mayor expresión de las conductas activas³⁰⁸. En hembras OVX se ha observado que las progestinas y los estrógenos reducen la conducta de inmovilidad^{305,306}, y predomina la conducta de nado mostrando así una mayor sensibilidad a las acciones del E₂.

Los estrógenos aumentan la actividad eléctrica de las células nerviosas en las zonas cerebrales del hipotálamo basomedial, y la disminuyen en las neuronas del APO¹⁹⁵.

El E₂ y la unión a su receptor participan activamente en la regulación de muchas funciones hipotalámicas, por lo que se relaciona con los estados afectivos, cumpliendo un papel importante en la modulación de las funciones cerebrales que producen una modificación en el estado de ánimo y de la conducta^{231,245,247}, tal como la depresión²⁴⁶⁻²⁴⁸.

Los resultados sugieren que la nicotina sólo tiene efecto cuando el estradiol no está presente y cuando no están presentes sus efectos transcripcionales (entre 40 y 50 horas después de su administración).

Los resultados de inmovilidad durante la fase de proestro (figura 18), mostraron que la administración aguda de nicotina no modifica la inmovilidad en ratas hembras de manera significativa, pero los resultados se quedaron en los límites de la significancia.

Esto podría deberse a que fase de estro tiene dos etapas, durante la primera parte del proestro los niveles de estrógeno y progesterona son muy bajos, la concentración en suero de E₂ comienza a elevarse en medio de la fase de proestro, y dura aproximadamente 6 a 12 horas, pero es hasta después de la ovulación que alcanza su pico máximo con una concentración de 100 a 150 pg/mL²³⁷.

Durante la fase de estro, los resultados de inmovilidad (figura 19), muestran que la nicotina no tiene efecto con respecto al control, aunque se observa que disminuye la inmovilidad de la dosis mínima efectiva con respecto a la dosis máxima no efectiva, no existen diferencias con el control.

Esta ausencia del efecto se puede deberse a que durante esta fase del ciclo estral existe un pico de E₂, tal como se muestra en la figura 13, después la concentración en suero de E₂ decrece a valores basales de 3 a 12 pg/mL aproximadamente²³⁹, pero sus efectos transcripcionales todavía están presentes.

En la figura 20, se muestran los resultados de la inmovilidad en ratas hembra en diestro 1, durante la PNF.

El tratamiento agudo con ambas dosis de NIC no modifica la inmovilidad en ratas hembras en la fase de diestro 1.

Esto puede deberse, además de la presencia de efectos transcripcionales del estradiol, a que durante esta fase ocurren alteraciones rápidas en la síntesis de hormonas esteroides^{211,212}, y es por estas oscilaciones hormonales y otras cascadas funcionales que ocurren durante esta fase, que los niveles hormonales de estrógenos y progestinas no son suficiente para que la nicotina ejerza su efecto antidepresivo, ya que los experimentos en donde se muestra que estas hormonas muestran efecto antidepresivo ha sido con ratas hembras OVX.

En la figura 21, se muestran los resultados de la inmovilidad en ratas hembra en diestro 2 durante la PNF, con la administración de la dosis mínima efectiva (0.4mg/Kg) se observa una disminución de la inmovilidad de con respecto a las ratas con solución salina.

La fase de diestro 2 es en el que decaen los niveles de estrógeno y progesterona (P₄) y no hay efectos transcripcionales del estradiol. Puede ser debido a esta disminución en los niveles de E₂ y P₄, que las ratas a las que solo se les administró solución salina se encontrarán más deprimidas y por ello se logró observar el efecto antidepresivo de la nicotina con la dosis mínima efectiva de (0.4 mg/Kg).

Los niveles de inmovilidad sobre las diferentes fase del ciclo estral sobre hembras control a las que se les administró solución salina (SAL) se observan en la figura 22, donde puede apreciarse un aumento en la inmovilidad durante la fase de diestro 2 con respecto a las

fases de proestro, estro y diestro 1, esto parece ser el resultado de la disminución de los niveles hormonales de E₂ y P₄.

Las fluctuaciones hormonales, se encuentran asociadas a presentar una mayor vulnerabilidad ante la depresión²⁴⁸⁻²⁵¹ así como la asociación entre los signos/síntomas de depresión con los cambios en los niveles plasmáticos de esteroides sexuales. Tal como niveles bajos de estrógenos^{255,256}, progestinas, y altos niveles de FSH y LH^{252,253,255-257}. Se sabe que el E₂ es de gran utilidad en el tratamiento de los síntomas de la depresión postparto.

Como se ve en la literatura, la administración nicotina y hormonas como tratamiento antidepresivo en mujeres que se encuentran durante los períodos con bajos niveles de estrógeno, podría ser benéfico para mejorar el estado de ánimo, así como los signos/síntomas de la depresión^{152,308}.

CONCLUSIONES

- La pre-prueba y la prueba de Porsolt puede realizarse con 4 h de diferencia.
- La dosis de 0.3 mg/Kg de nicotina no tiene efecto en machos, ni en hembras.
- El efecto antidepresivo de la administración de nicotina en las ratas hembra depende de la fase del ciclo estral en que se encuentren.
- La dosis mínima efectiva de 0.4mg/Kg, solo tiene efecto en hembras que se encuentran en la fase de diestro2.
- En diestro 2 existe un aumento en la inmovilidad, es posible que la falta de hormonas como E₂ y P₄, provoque este fenómeno.
- En hembras que ciclan normalmente, el estradiol parece no disminuir los niveles basales de inmovilidad, de hecho la falta de hormonas parece aumentar la inmovilidad.
- Las hembras parecen ser resistentes a la nicotina, es posible que el estradiol sea el responsable de impedir el efecto antidepresivo de la nicotina.
- Es posible que los mecanismos que regulan la disminución de la inmovilidad en los machos tratados con nicotina no estén presentes en las hembras, ya sea por efecto de la variación estral de los niveles hormonales.

PERSPECTIVAS

Durante el desarrollo del proyecto surgieron varias preguntas experimentales, por lo que se planteó realizar más experimentos para probar otras dosis, con el fin de observar si la administración de una dosis mayor o menor en ratas hembras logra tener un efecto antidepressivo en las fases del ciclo estral correspondientes a proestro, estro y diestro 1.

Al realizar más dosis se podrá crear una curva dosis-respuesta en ratas hembra sobre las diferentes fases del ciclo estral, para complementar el trabajo realizado con esta tesis, y así poder llevar a cabo la publicación de un artículo científico.

Otra de las preguntas que surgieron después de obtener los resultados de este proyecto, es que durante la fase de diestro 2 podría existir una mayor densidad de receptores nicotínicos, por lo que se pensó en realizar otro trabajo en el que se evalúen los niveles de receptores de nAChs en las diferentes fases del ciclo estral, sobre todo de los receptores $\alpha_4\beta_2$ y/o $\alpha_6\beta_2$ los cuales se asocian a la presencia de depresión, con técnicas de biología molecular como Western Blot.

En el mundo se tienen pocos trabajos sobre lo que ocurre con las ratas hembras en condiciones hormonales normales tanto en modelos animales de depresión así como otros modelos animales de enfermedades mentales. Es una deficiencia lamentable debido a que los estudios básicos y preliminares para drogas se realizan en modelos animales, que es un paso previo para crear tratamientos y medicamentos en seres humanos.

GLOSARIO

MDD= Depresión mayor	FRL= Línea de Ratas Flinders Resistentes
5-HT= Serotonina	IA= Indefensión aprendida
NA= Noradrenalina	EMT= Estimulación magnética transcraneal
PET= Tomografía por emisión de positrones	ATC= Antidepresivos tricíclicos
MAO= Monoamino-oxidasa	IMAO= Inhibidores de la MAO
CPF= Corteza prefrontal	A= Adrenalina
NAcc= Núcleo accumbens	ACh= Acetilcolina
hTPH2= Enzima triptófano hidroxilasa tipo 2 humana	SNP= Sistema nervioso periférico
Trp= Triptófano	CAT= Enzima acetilcolintransferasa
ISRS= Inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT	CoA= Acetil-coenzima A
LC= Locus coeruleus	AChE= Acetilcolinesterasa
3H= Nisoxetina	nAChR= Receptor nicotínico para la ACh
MHPG= 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol	mAChR= Receptores muscarínicos
BDNF= Factor de crecimiento derivado del cerebro	AMPc= Adenilato monofosfato cíclico
PNF= Prueba de nado forzado	GMPc= Guanosín monofosfato cíclico
MOR= sueño de movimientos oculares rápidos	NT= Neurotransmisor
PPT= Núcleo pedunculo pontino tegmental del tallo cerebral	NO= óxido nítrico
LDT= Núcleo laterodorsal	GABA= ácido γ -aminobutírico
CRH= Hormona liberadora de corticotropina	AVT= área ventral tegmental
SNC= Sistema nervioso central	BHE= Barrera hematoencefálica
SNA= Sistema nervioso autónomo	UGT= Uridinadifosfato-glucuronosiltransferasa
DFP= Diisopropilfluorofosfato	AOX= Oxidasa citoplasmática
FSL= Línea de Ratas Flinders Sensibles	NNO= N'-óxido de nicotina
	FMO3= Mono-oxigenasa 3 que contiene flavina
	ARNm= ácido ribonucleico mensajero
	CMS= Estrés leve crónico

FLX= Fluoxetina

CLI= Clomipramina

OBX= Bulbectomía olfatoria

IV= Intravenosa

APO= área preóptica

NVM= Núcleo ventromedial

NSQ= Núcleo supraquiasmático

ST= Estría terminal

NDS-APO= Núcleo dimórfico sexual del
APO

CH-R= Hormona a un receptor
citoplasmático específico

RE= Receptores a estrógenos

E₂= Estradiol (17 β-estradiol)

P₄= Progesterona

GnRH= Hormona liberadora de
gonadotropina

FSH= Hormona folículo estimulante

LH= Hormona luteinizante

E₁= Estrona

E₃= Estriol

EE₂= Etilenestradiol o levonorgestrel

DES= Diefilesfilbestrol

PRL= Prolactina

OVX= Ratas hembra ovariectomizadas

CRF= Factor liberador de corticotropina

REFERENCIAS

- 1) Parker G. Beyond major depression. *Psychol Med.* 2005; 35, 467-74.
- 2) Ezquiaga E, García-López A, García M. "Depresión". Imprecisión diagnóstica y terapéutica. Importantes consecuencias en la práctica clínica. *Rev. Asoc. Esp. Neuropsiq.* 2011; (31) (111), 457-475.
- 3) Temas de Salud. Organización Mundial de la Salud. [Sede Web]* [11 de junio 2016] Depresión. Consultado en: <http://www.who.int/topics/depression/es/>
- 4) Centro de Prensa. Organización Mundial de la Salud. [Sede Web]* [Abril 2016; 11 de junio 2016] La depresión. URL disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/es/>
- 5) Centro de Prensa. Organización Mundial de la Salud. [Sede Web]* [Abril 2016; 11 de junio 2016] Trastornos mentales. URL disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs396/es/>
- 6) Vallejo J., Leal C. Tratado de Psiquiatría. Barcelona: Ars Medica; 2005.
- 7) Hare D. L., Toukhsati, S. R., Johansson, P. & Jaarsma, T. Depression and cardiovascular disease: a clinical review. *Eur Heart J.* 2014; (35), 1365–1372.
- 8) Knol M. J. et al. Depression as a risk factor for the onset of type 2 diabetes mellitus. A meta-analysis. *Diabetologia.* 2006; (49), 837–84.
- 9) Garde K. Depression–gender differences. *Ugeskr Laeger.* 2007; (169), 2422–2425.
- 10) Nestler E. J., Barrot M., DiLeone R. J., et al. Neurobiology of depression. *Neuron, E.U.A.* 2002; (34), 13–25.
- 11) Rojtenberg S. L. Depresivos y antidepresivos de la neurona y de la mente, de la molécula y de la palabra. [Internet] Argentina: Panamericana; 2001. (1-3) [10 de junio 2016] URL disponible en: https://books.google.com.mx/books?id=vnGO_Iz37IUC&lpg=PA1&dq=depresion&pg=PR4#v=onepage&q=depresion&f=false
- 12) Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales DSM-5. 5ª ed. España: Panamericana; 2014. 156-184.
- 13) Van de Kar L. D. Neuroendocrine aspects of the serotonergic hypothesis of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 1989; (13), 237-246.
- 14) Sachar E. Disorder of feeling: affective disorders. In: Kandel E, Schwartz JF (Eds.) *Principles of neural Science.* Elsevier Press, E.U.A.: 1981; 17-72.
- 15) Bunney W. E. Jr, Davis J. M. Norepinephrine in depressive reactions: a review. *Arch Gen Psychiatry.* 1965; (13), 483.
- 16) Schildkraut J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry.* 1965; (122), 509.
- 17) Goodwin F. K., Bunney W. E. Depressions following reserpine: a reevaluation. *Semin Psychiatry.* 1971; (3), 435-448.
- 18) Akiskal H. S. Mood disorders: introduction and overview. En: Kaplan HI, Sadock BJ, eds. *Comprehensive Textbook of Psychiatry.* 6th ed. Baltimore, Md: Lippincott, Williams & Wilkins; 1995. 1067-1079.
- 19) Cruzblanca H., Coronel L., et al. Neurobiología de la depresión mayor y de su tratamiento farmacológico. *Salud Mental.* 2016; (39) (1), 47-58.
- 20) Meyer J. H, Ginovart N., et al. Elevated monoamine oxidase A levels in the brain. An explanation for the monoamine imbalance of major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2006; (63), 1209-1216.

- 21) Ruhé H. G., Mason N. S., Schene A. H. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol Psychiatry*. 2007; (12), 331-359.
- 22) Klimek V., Stockmeier C., et al. Reduced levels of norepinephrine transporters in the locus coeruleus in major depression. *J Neurosci*. 1997; (17), 8451-8458.
- 23) Vázquez Palacios G. Interacción serotonina-acetilcolina: Efecto de la administración de nicotina sobre la inmovilidad en la prueba de nado forzado y el patrón de sueño en un modelo animal de depresión. [Doctorado en Biología Experimental] México: UAM-I; 2006.
- 24) Martinowich K., Manji H., Lu B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature Neurosci*. 2007; (10), 1089-1093.
- 25) Dwivedi Y., Rizavi H. S., et al. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry*. 2003; (60), 804-815.
- 26) Groves J. O. Is it time to reassess the BDNF hypothesis of depression? *Mol Psychiatry*. 2007; (12), 1079-1088.
- 27) Nibuya M., Morinobu S., Duman R. S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci*. 1995; (15), 7539-7547.
- 28) Saarelainen T., Hendolin P., et al. Activation of the trkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects. *J Neurosci*. 2003; (23), 349-357.
- 29) Malberg J. E., Eisch A. J., et al. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*. 2000; (20), 9104-9110.
- 30) Shirayama Y., Chen AC-H, et al. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci*. 2002; (22), 3251-3261.
- 31) Steriade M., McCormick D. A, Sejnowski T. J. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science*. 1993; (262), 679-685.
- 32) Vieyra P. Estudio del efecto antidepresivo y adictivo de la nicotina. [Doctorado en Ciencias Biológicas]. México: UNAM; 2008.
- 33) Ressler K. J., Nemeroff C. B. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biol Psychiatry*. 1999; (46), 1219-1233.
- 34) Heim C., Nemeroff C. B. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry*. 2001; (49), 1023-1039.
- 35) Barr C. S., Newman T. K., et al. The utility of the non-human primate; model for studying gene by environment interactions in behavioral research. *Genes Brain Behav*. 2003; (2), 336-340.
- 36) Pryce C. R., Rüedi-Bettschen D., et al. Long-term effects of early-life environmental manipulations in rodents and primates: potential animal models in depression research. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005; (29), 649-674.
- 37) Schmidt M., Xiao-Dong W., et al. Early life stress paradigms in rodents: potential animal models of depression? *Psychopharmacology*. 2011; (214), 131-140.
- 38) Willner P., Mitchell P. J. The validity of animal models of predisposition to depression. *Behav Pharmacol*. 2002; (13), 169-188.
- 39) Knight H. M., Pickard B. S., et al. A cytogenetic abnormality and rare coding variants identify ABCA13 as a candidate gene in schizophrenia, bipolar disorder, and depression. *Am J Hum Genet*. 2009; (85), 833-846.
- 40) Geyer M. A., Markou A. Animal models of psychiatric disorders. In: Bloom FE, Kupfer DJ (eds) *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. Raven. New York: 1995; 787-798.

- 41) Veenema A. H. Early life stress, the development of aggression and neuroendocrine and neurobiological correlates: what can we learn from animal models? *Front Neuroendocrinol.* 2009; (30), 497–518.
- 42) Kaufman J., Plotsky P. M., et al. Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. *Biol Psychiatry.* 2000; (48), 778–790.
- 43) Tizabi Y., Overstreet D. H., et al. Antidepressant effects of nicotine in an animal model of depression. *Psychopharmacology.* Alemania: 1999; (142), 193-199.
- 44) Cariton P. R. Theories and models in Psychopharmacology. En *Psychopharmacology: A Generation of Progress.* E.U.A: 1978; 553-561.
- 45) Hernández V. M. La derrota social como modelo de depresión en ratas de la cepa wistar. [Licenciatura en Biología Experimental]. México: UAM-I; 2002.
- 46) Parra A. Estudio del efecto de los esteroides sexuales sobre la adquisición de la indefensión aprendida. [Doctorado en Psicología]. España: Universidad Autónoma de Madrid; 1984.
- 47) Tizabi Y., Rezvani A. H., et al. Depressive characteristics of FSL rats: involvement of central nicotinic receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 2000; (66), 73-77.
- 48) De Pablo J. M., Guillamon A. Validez de la prueba de natación forzada como modelo animal de depresión. *Rev de Psicol Gral y Aplic.* 1992; (45) (2), 151-160.
- 49) Porsolt R. D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 1977; (266), 730-732.
- 50) Porsolt, R. D., Bertin, A., Jalfre M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Archives internationales de Pharmacodynamie.* 1977; (229), 327-336.
- 51) Porsolt R. D., Anton G., Blavet N., Jalfre M. Behavioral despair in rats: A new model antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology.* 1978; (47), 379-391.
- 52) Steru L., Chermat R., Thierry B., Simon, P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology.* 1985; (85) (3), 367–370.
- 53) Maier S. F. Learned helplessness and animal models of depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry.* 1984; (8) (3), 435–446.
- 54) Katz R. J., Roth K. A., Carroll, B. J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 1981; (5) (2), 247–251.
- 55) Katz R. J., Roth K. A., Schmaltz, K. Amphetamine and tranylcypromine in an animal model of depression: Pharmacological specificity of the reversal effect. *Neurosci Biobehav Rev.* 1981; (5) (2), 259–264.
- 56) Willner P., Towell A., Sampson D., et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology.* 1987; (93) (3), 358–364.
- 57) Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology.* 1997; (134), 319–329.
- 58) Caspi A., Sugden K., Moffitt T. E., et al. Influence of life stress on depression: Moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science.* 2001; (301) (5631), 386–389.
- 59) Song C., Leonard B. The effect of olfactory bulbectomy in the rat, alone or in combination with antidepressants and endogenous factors, on immune function. *Hum Psychopharmacol Clin Exp.* 1995; 10:7–18.
- 60) Linge R., Pazos A., Díaz A. Social isolation differentially affects anxiety and depressive-like responses of bulbectomized mice. *Behav Brain Res.* 2013; (245), 1–6.
- 61) Shechner T., Hong M., et al. Fear conditioning and extinction across development: Evidence from human studies and animal models. *Biological psychology.* 2014; (100), 1-12.

- 62) Liedtke W. B., McKinley M. J., Walker L. L., et al. Relation of addiction genes to hypothalamic gene changes subserving genesis and gratification of a classic instinct, sodium appetite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; (108) (30), 12509-12514.
- 63) Yates JR, Darna M, Gipson CD, Dwoskin LP, Bardo MT. Dissociable Roles of Dopamine and Serotonin Transporter Function in a Rat Model of Negative Urgency. *Behavioural brain research*. 2015; (291), 201-208.
- 64) Bortolato B., Miskowiak K. W., Köhler C. A., et al. Cognitive remission: a novel objective for the treatment of major depression? *BMC Medicine*. 2016; (14), 9.
- 65) Porsolt R. D. Behavioural despair. En: *Antidepressants: Neurochemical, Behavioral and Clinical Perspectives*. Raven, E.U.A: 1981; 121-139.
- 66) Seligman M. E. *Helplessness: On Depression, Development and Death*. E.U.A: 1975.
- 67) Hawkins J., Hicks R. A., Phillips N., Moore J. D. Swimming rats and human depression. *Nature*. 1978; (274) (512).
- 68) Parra A., Arenas S., et al. Sex differences in the effects of neuroleptics on escape-avoidance behavior in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1999; (64), 813-820.
- 69) De Pablo J. M., Parra A., Segovia S., Guillamon Learned immobility explains the behavior of rats in the forced swimming test. *Physiology and Behavior*. 1989; (46), 229-237.
- 70) Poncelet M., Brochet D., et al. Antidepressant-like effects of diphenylhydantoin in mice: involvement of alpha-adrenoceptors. *European Journal Pharmacology*. 1986; (120) (1), 133-135.
- 71) Borsini y Meli A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity?. *Psychopharmacology*. 1978; (94), 147-160.
- 72) Kitada Y. Miyauchi T., et al. Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. *European Journal of Pharmacology*. 1981; (72), 145-152.
- 73) O' Neill K., Valentino D. Escapability and generalization; Effect on behavioral despair. *European Journal of Pharmacology*. 1982; (78), 379-380.
- 74) Janowski D. S., El-Yousef M. K., et al. A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet*. 1972; (2), 6732-6735.
- 75) Dilsaver S. C. Cholinergic mechanisms in depression. *Brain Research Review*. 1986; (11), 285-316.
- 76) Porsolt R. D., Lenegre A., McArthur R. A. Pharmacological models of depression. En: *Animal models in psychopharmacology: advances in pharmacological sciences*. Suiza: Birkhauser Verlag; 1991.
- 77) Willner P. Animal models as simulations of depression. *Trends Pharmacol Sci*. 1991; (12) (4), 131-136.
- 78) Duncan G. E., Jhonson K. B., Breese G. R. Topographic patterns of brain activity in response to swim stress: assessment by 2-deoxyglucose uptake and expression of Fos-like immunoreactivity. *J Neurosci*. 1993; (13) (9), 3932-3943.
- 79) Culliman W. E., Herman J. P., et al. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience*. 1995; (64) (2), 477-505.
- 80) Borsini F., Meli A. The forced swimming test: its contribution to the understanding of the mechanism of action of antidepressant. En: *Dopamine and mental depression*. E.U.A: Pergamon Press; 1990; 63-76.
- 81) Cervo L., Grignani G., et al. Role of central serotonergic neurons in the effect of sertraline in rats in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol*. 1991; (196), 217-222.
- 82) Lucki I., Singh A., Kreiss D. S. Antidepressant-like behavioral effects of serotonin receptor agonists. *Neurosci Biobehav Rev*. 1994; (18), 85-95.

- 83) Strange P. G. Brain biochemistry and brain disorders. E.U.A: Oxford University Press; 1992; 258-292.
- 84) Baldessarini R. J. Los fármacos y el tratamiento de enfermedades psiquiátricas. En: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8va ed. México: Médica Panamericana; 1991.
- 85) Borsini F., Volterra G., Mell A. Does the behavioral "despair" test measure "despair"? *Physiol Behav.* 1986; (38), 385-386.
- 86) De Vry J., Maurel S., et al. Comparison of hypericum extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1999; (9) (6), 461-468.
- 87) OMS. Tratamiento farmacológico de los trastornos mentales en la atención primaria de salud. [Internet] E.U.A: Organización Panamericana de la Salud; 2010. [11 de junio 2016] URL disponible en: http://www.who.int/mental_health/management/psychotropic_book_spanish.pdf?ua=1
- 88) Miembros activos de la asociación psiquiátrica mexicana (APM). Guía de la asociación psiquiátrica de latino américa para el tratamiento de las personas con depresión. Asociación Psiquiátrica de Latino América APM-APAL; 2008. 39-63.
- 89) Hemby S. E., Lucki I., et al. Potential antidepressant effects of novel trapane compounds, selective for serotonin or dopamin transporters. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997; (282) (2), 727-233.
- 90) Rang H. P., Dale M. M., et al. Farmacología. 6a ed. España: Elsevier; 2008. 169.
- 91) Soto M. E., Torres J. E. Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. *Rev Mex Neuroci.* 2005; (6) (4), 315-326.
- 92) Amtage F., Neugebauer B., et al. Characterization of nicotinic receptors inducing noradrenaline release and absence of nicotinic autoreceptors in human neocortex. *Brain Res Bull.* 2004; (62), 413-423.
- 93) Chamizo A., Muñoz J. E. Psicofarmacología de la nicotina y conducta adictiva. *Trastornos Adictivos* 2005; (7) (3), 137-152.
- 94) Perry E., Walker M., et al. Acetylcholine in mind: a neurotransmitter correlate of consciosness? *TINS.* 1999; (22) (6), 273-280.
- 95) Velázquez-Moctezuma J., Gillin J. C., Shiromani P. J. Effect of specific M1, M2 muscarinic receptor agonist on REM sleep generation. *Brain Res.* 1989; (503), 128-131.
- 96) Gillin J. C., Byerley W. F. The diagnosis and management of insomnia. *N Engl J Med.* 1990; (322), 239-248.
- 97) Velázquez-Moctezuma J., Shalauta M., et al. Cholinergic antagonists and REM sleep generation. *Brain Res.* 1991; (543), 175-179.
- 98) Díaz-Ríos M., Guertin P.A., Rivera-Oliver M. Neuromodulation of spinal locomotor networks in rodents. *Curr Pharm Des.* 2017; (23) (46).
- 99) Wess J. Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice: novel phenotypes and clinical implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004; (44), 423-50.
- 100) Picciotto M. R. It is not "either/or": activation and desensitization of nicotinic acetylcholine receptors both contribute to behavior related to nicotine addiction and mood. *Progress in Neurobiology.* 2008; (84) (4), 329-342.
- 101) Picciotto M., Caldarone B., et al. Nicotinic receptors in the brain: links between molecular biology and behavior. *Neuropsychopharmacology.* 2000; (22), 451-465.
- 102) Lena C., Changeux J. P., Mulle C. Evidence for preterminal nicotinic receptor somatodendritic GABAergic axons in the rat interpeduncular nucleus. *J Neurosci.* 1993; (13) (6), 2680-2688.
- 103) Benowitz N. L. Pharmacology of nicotine: addiction and therapeutics. *Ann. Revs. in Pharmacol. Toxicol.* 1996; (36), 597-613.

- 104) Pontieri F. E., Passarelli F., et al. Functional correlates of nicotine administration: similarity with drugs of abuse. *J Mol Med.* 1998; (76), 193-201.
- 105) Kalivas P. W., Churchill L., Klitenick M. A. GABA and enkephalin rojection from the nucleus accumbens and ventral pallidum to the ventral tegmental area. *Neuroscience* 1993; (57), 1047-1060.
- 106) McGehee D. S., Heath M. J., et al. Nicotine enhancement of fast excitatory synaptic transmission in CNS by presynaptic receptors. *Science* 1995; (269), 1692-1696.
- 107) Ribeiro E. B., Bettiker R. L., et al. Effects of systemic nicotine on serotonin release in rat brain. *Brain Res* 1993; (621), 311-318.
- 108) Boyadjieva N. I., Sarkar D. K. The secretory response of hypothalamic beta-endorphin neurons to acute and chronic nicotine treatments and following nicotine withdrawal. *Life Sci* 1997; (61), 59-66.
- 109) Clarke P. B. Nicotine dependence-mechanisms and therapeutic strategies. *Biochem. Soc. Symp.* 1993; (59), 83-95.
- 110) Alkondon M., Albuquerque E. X. Diversity of nicotine acetylcholine receptors in rat hippocampal neurons. 1. Pharmacological and functional evidence dor distinct structural subtypes. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993; (265) (3), 1455-1473.
- 111) Descarries L., Gisiger V., Steeriade M. Diffuse transmission by acetylcholine in the CNS. *Prog. Neurobiol.* 1997, (53) (5), 603-625.
- 112) Lullman H., Mohr K., Hein L. *Farmacologia: Texto y atlas.* 6ª ed. España: Panamericana; 2009.
- 113) Role L. W., Berg D. K. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron.* 1996; (16), 1077-1085.
- 114) Tomkins D. M., Sellers E. M. Addiction and the brain: the role of neurotransmitters in the cause and treatment of drug dependence. *CMAJ:* 2001; (164), 817-821.
- 115) Ramos G. *Propiedades farmacológicas de la nicotina.* [Licenciatura en Química Farmacéutico Biología] México: UNAM; 2014.
- 116) Benowitz N. L. Clinical pharmacology of nicotine: implication for undestanding, preventing, and treating tobacco addiction. *Clican Pharmacology & Therapeutics.* 2008; (83) (4), 531-541.
- 117) Watkins S. S., Koob G. F., Markou A. Neuronal mechanisms underlying nicotine addiction: acute positive reinforcement and withdrawal. *Nic Tob Res.* 2000; (2), 19-37.
- 118) Zubieta J., Lombardi U., et al. Regional cerebral blood flow effets of nicotine in overnight abstinent smokers. *Biol Psychiatry.* 2001; (49), 906-913.
- 119) Hughes J. R., Higgins S. T., et al. Nicotine withdrawal versus other drug withdrawal síndromes: similarities and dissimilarities. *Addiction.* 1994; (89), 1461-1470.
- 120) Benwell M. E., Balfour D. J., Anderson J. M. Smoking associated changes in serotonergic system of discrete regions of human brain. *Psychopharmacology.* 1990; (102), 68-72.
- 121) Mihailescu S., Drucker-Colin R. Nicotine and brain disorders. *Acta Pharmacol Sin.* 2000; (21), 97-104.
- 122) Jackson W. J., Jonnala R. R., Terry A. V. Differential improvement in memory-related task perfomance with nicotine by aged male and female Rhesus monkeys. *Behav. Pharmacol.* 1999; (10) (6-7), 681-690.
- 123) Wilson A. L., Langley L. K., et al. Nicotine patches in Alzheimer's disease: pilot study on learning, memory, and safety. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995; (51) (2-3), 509-514.
- 124) Nordberg A. Nicotinic receptor abnormalities of Alzheimer's disease: Therapeutic implications. *Biol Psychiatry.* 2001; (49), 200-210.

- 125) Jarvik M. E. Beneficial effects of nicotine. *Brit J Addiction*. 1991; (86), 571-575.
- 126) Mudo G., Belluardo N., Fuxe K. Nicotinic receptor agonists as neuroprotective/neurotrophic drugs. Progress in molecular mechanisms. *J Neural Transm* 2007; (114), 135-147.
- 127) Teeguarden J. G. A multi-route model of nicotine-cotinine pharmacokinetics, pharmacodynamics and brain nicotinic acetylcholine receptor binding in humans. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2013; (65) (1), 12-28.
- 128) Index T. M. Nicotine [Sede Web]* E.U.A: The Merck Index Online. [6 noviembre 2014; 07 Febrero 2017]. <http://www.rsc.org/Merck-Index/searchresults?searchterm=nicotine>.
- 129) Weschler C. J. SVOC Exposure indoors: fresh look at dermal phatways. *Indoor Air*. 2012; (22) (5), 337-356.
- 130) Peteren K. K. Effect of local controlled heat on transdermal delivery of nicotine. *Int Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2011; (3) (3), 236-242.
- 131) Sharma A., et al. In vivo brain imaging of human exposure to nicotine and tobacco. En: *Nicotine Psychopharmacology*. 2009; 145-171.
- 132) Tega A. S. Involvement of the H⁺/organic antiporter in nicotine transport in rat liver. *Drug Metab Dispos*. 2014; (43) (1), 89-92.
- 133) Benowitz N. L. Prevalence of smoking sssessed biochemically in an urban public hospital: A rationale for routine cotinine screening. *Am J Epidemiol*. 2009; (170), 885-891.
- 134) Mello N. K. Nicotine leveld after IV nicotine and cigarette smoking in men. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2013; (21) (3), 188-195.
- 135) Brody A. L. Effect of secondhand smoke on occupancy of nicotinic acetylcholine receptors in brain. *Arch Gen Psychiatry*. 2013; (68) (9), 953-960.
- 136) Digard H. P. Determination of nicotine absorption from multiple tobacco products and nicotine gum. *Nicotine Tob Res*. 2013; (15) (1), 255-261.
- 137) Fernández I. G. Eficacia de la terapia cognitivo conductual, los parches de nicotina y su combinacion para dejar de fumar. [Doctorado] España: Universidad Complutense de Madrid; 2012.
- 138) Oliveira P. C. Nicotine exposure affects mother's and pup's nutritional, biochemical, and hormonal profiles during lactation in rats. *J Endocrinol*. 2010; (205) (2), 159-170.
- 139) Benowitz N. L., Jacob P. Metabolism of nicotine to cotinine studied by a dual stable isotope method. *Clin Pharmacol Ther* 1994; (56), 483-493.
- 140) Klein T. E. Integrating genotype and phenotype information: an overview of the PharmGKB Project. *Pharmacogenomics J*. 2001; (1) (3), 167-170.
- 141) Patel S. D. The contribution of common genetic variation to nicotine and cotinine glucuronidation in multiple ethnic/racial populations. *Cáncer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014.
- 142) Kumar S. N. Nicotine addiction and its pharmacological effects. *A Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2011; (1) (3), 45-49.
- 143) Benowitz N. L., Jacob P. Trans-3'-hydroxycotinine: disposition kinetics, effects and plasma levels during cigarette smoking. *Br J Clin Pharmacol* 2001; (51), 53-9.
- 144) Raunio H. CYP2A6: genetics, estructure, regulation, and function. *Drug Metabol Drug Interact*. 2012; (27) (2), 73-88.
- 145) Schnoll R. A., Patterson F., Lerman C. Treating tobacco dependence in women. *J Womens Health (Larchmt)*. 2007; (16) (8), 1211-1218.
- 146) Vieira-Brock P. L. Age-related differences in the disposition of nicotine and metabolites in rat brain and plasma. *Nicotine Tob Res*. 2013.

- 147) Armitage A. K., Dollery C. T., et al. Absorption and metabolism of nicotine from cigarettes. *Br Med J.* 1975; (4), 313-316.
- 148) Kintz P., Henrich A., et al. Nicotine monitoring in sweat with a sweat patch. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998; (705), 357-361.
- 149) Seth P., Cheeta S., Tucci S., File S. E. Nicotinic--serotonergic interactions in brain and behaviour. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002; (4), 795-805.
- 150) Blier P., Piñeyro G., et al. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Ann NY Acad Sci.* 1998; 15, (861), 204-16.
- 151) Dion A. M., Sanderson S. C., et al. Diminished conditioned responding to the nicotine stimulus by antidepressant drugs with differing specificity for the serotonin and norepinephrine transporter. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012; (100) (3), 419-424.
- 152) Rahman S. Targeting brain nicotinic acetylcholine receptors to treat major depression and co-morbid alcohol or nicotine addiction. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2015; (14) (5), 647-653.
- 153) Kutlu M. G., Parikh V., Gould T. J. Nicotine Addiction and Psychiatric Disorders. *Int Rev Neurobiol.* 2015; (124), 110-147.
- 154) Freitas K. C., Carroll F. I., Negus S. S. Effects of nicotinic acetylcholine receptor agonists in assays of acute pain-stimulated and pain-depressed behaviors in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015; (355) (2), 341-350.
- 155) Andreasen J. T., Henningsen K., et al. Nicotine reverses anhedonic-like response and cognitive impairment in the rat chronic mild stress model of depression: comparison with sertraline. *J Psychopharmacol.* 2011; (25) (8), 1134-1141.
- 156) Vázquez-Palacios G., Bonilla-Jaime H., Velázquez-Moctezuma J. Antidepressant effects of nicotine and fluoxetine in an animal model of depression induced by neonatal treatment with clomipramine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2005; (29) (1), 39-46.
- 157) Vázquez-Palacios G., Hernández-González M., et al. Nicotine and fluoxetine induce arousing effects on sleep-wake cycle in antidepressive doses: a possible mechanism of antidepressant-like effects of nicotine. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010; (94) (4), 503-509.
- 158) Tizabi Y., Getachew B., et al. Antidepressant-like effects of nicotine and reduced nicotinic receptor binding in the Fawn-Hooded rat, an animal model of co-morbid depression and alcoholism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009; (33) (3), 398-402.
- 159) Andreasen J. T., Redrobe J. P. Antidepressant-like effects of nicotine and mecamylamine in the mouse forced swim and tail suspension tests: role of strain, test and sex. *Behav Pharmacol.* 2009; (20) (3), 286-295.
- 160) Tizabi Y., Hauser S. R., et al. Effects of nicotine on depressive-like behavior and hippocampal volume of female WKY rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010; (34) (1), 62-69.
- 161) Túnez I., Drucker-Colín R., et al. Protective effect of nicotine on oxidative and cell damage in rats with depression induced by olfactory bulbectomy. *Eur J Pharmacol.* 2010; (627) (1-3), 115-118.
- 162) Salín-Pascual R. J., De la Fuente J. R., et al. Effects of transderman nicotine on mood and sleep in nonsmoking major depressed patients. *Psychopharmacology Alemania:* 1995; (121) (4), 476-479.
- 163) Benowitz N. L. Neurobiology of nicotine addiction: implications for smoking cessation treatment. *Am J Med.* 2008; (4-1), (3-10).

- 164) Le Houezec J. Role of nicotine pharmacokinetics in nicotine addiction and nicotine replacement therapy: a review. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003; (7) (9), 811-819.
- 165) Picciotto M. R., Brunzell D. H., Caldarone B. J. Effect of nicotine and nicotinic receptors on anxiety and depression. *Neuroreport.* 2002; (13) (9), 1097-1106.
- 166) Wium-Andersen M. K., Orsted D. D., Nordestgaard B. G. Tobacco smoking is causally associated with antipsychotic medication use and schizophrenia, but not with antidepressant medication use or depression. *Int J Epidemiol.* 2015; (44) (2), 566-577.
- 167) McKernan L. C., Nash M. R., et al. Further evidence of self-medication: personality factors influencing drug choice in substance use disorders. *Psychodyn Psychiatry.* 2015; (43) (2), 182-275.
- 168) Mineur Y. S., Picciotto M. R. Nicotine receptors and depression: revisiting and revising the cholinergic hypothesis. *Trends Pharmacol Sci.* 2010; (31) (12), 580-586.
- 169) Bruijnzeel A. W., Repetto M., Gold M. S. Neurobiological mechanisms in addictive and psychiatric disorders. *Psychiatr Clin North Am.* 2004; (27) (4), 661-674.
- 170) Balfour D.J., Ridley D. L. The effects of nicotine on neural pathways implicated in depression: a factor in nicotine addiction? *Pharmacol Biochem Behav.* 2000; (66) (1), 79-85.
- 171) Salin-Pascual RJ. Relationship between mood improvement and sleep changes with acute nicotine administration in non-smoking major depressed patients. *Rev Invest Clin.* 2002; (54) (1), 36-40.
- 172) Haro R., Drucker-Colín R. A two-year study on the effects of nicotine and its withdrawal on mood and sleep. *Pharmacopsychiatry.* 2004; (37) (5), 160-166.
- 173) Zawertailo L., Voci S., Selby P. Depression status as a predictor of quit success in a real-world effectiveness study of nicotine replacement therapy. *Psychiatry Res.* 2015; (165) (1), 120-127.
- 174) Johnson E. O., Breslau N. Is the association of smoking and depression a recent phenomenon? *Nicotine Tob Res.* 2006; (8) (2), 257-262.
- 175) McClave A. K., Dube S. R., et al. Associations between smoking cessation and anxiety and depression among U.S. adults. *Addict Behav.* 2009; (34) (6-7), 491-497.
- 176) Bernstein S. L., Boudreaux E. D., et al. Nicotine dependence, motivation to quit, and diagnosis among adult emergency department patients who smoke: a national survey. *Nicotine Tob Res.* 2008; (10) (8), 1277-1282.
- 177) Dierker L., Rose J., et al. Depression and nicotine dependence from adolescence to young adulthood. *Addict Behav.* 2015; (41), 124-128.
- 178) Tsoh J. Y., Humfleet G. L. Development of major depression after treatment for smoking cessation. *Am J Psychiatry.* 2000; (157) (3), 368-374.
- 179) Allen S. S., Hatsukami D. K., et al. Nicotine withdrawal and depressive symptomatology Transdermal nicotine use in postmenopausal women: does the treatment efficacy differ in women using and not using hormone replacement therapy? *Nicotine Tob Res.* 2004; (6) (5), 777-788.
- 180) Oncken C., Cooney J., et al. Transdermal nicotine for smoking cessation in postmenopausal women. *Addict Behav.* 2007; (32) (2), 296-309.
- 181) McKelvey K. L., Ramo D. E., et al. Polydrug use among urban adolescent cigarette smokers. *Addict Behav.* 2017; (66), 145-150.
- 182) Gilbert D. G., Dibb W. D., et al. Effects of nicotine and caffeine, separately and in combination, on EEG topography, mood, heart rate, cortisol, and vigilance. *Psychophysiology.* 2000; (37) (5), 583-595.
- 183) Perkins K. A., Jetton C., Keenan J. Common factors across acute subjective effects of nicotine. *Nicotine Tob Res.* 2003; (5) (6), 869-875.

- 184) Gilbert H. M., Warburton D. M. Attribution and the effects of expectancy: how beliefs can influence the experiences of smoking cessation. *Addict Behav.* 2003; (28) (7), 1359-1369.
- 185) Fallon J. H., Keator D. B., et al. Hostility differentiates the brain metabolic effects of nicotine. *Brain Res Cogn Brain Res.* 2004; (18) (2), 142-148.
- 186) Jones H. E., Griffiths R. R. Oral caffeine maintenance potentiates the reinforcing and stimulant subjective effects of intravenous nicotine in cigarette smokers. *Psychopharmacology.* 2003;(165) (3), 280-290.
- 187) Hughes J. R. Environmental determinants of the reinforcing effects of nicotine in humans. *J Subst Abuse.* 1989; (1), 319-329.
- 188) Hughes J. R., Rose G. L., Callas P. W. Do former smokers respond to nicotine differently than never smokers? A pilot study. *Nicot Tobac res.* 2000; (2), 255-262.
- 189) Netter P., Henning J., et al. Personality related effects of nicotine, mode of application, and expectancies on performance, emotional states, and desire for smoking. *Psychopharmacology.* 1998; (135), 52-62.
- 190) Salamanca F. *Citogenética Humana. Fundamentos y Aplicaciones Clínicas.* México: Medica Panamericana; 1990. 107-115.
- 191) Wilson J. D., George F. W., Griffin J. E. The hormonal control of sexual development. *Science.* 1981; (22), 1278-1284.
- 192) Park J. H., Burns-Cusato M., Dominguez-Salazar E., et al. Effects of sex chromosome aneuploidy on male sexual behavior. *Genes Brain Behav.* 2008; (7) (6), 609-617.
- 193) Wagner T., et al. Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY related gene SOX9. *Celi.* 1994; (49), 9-11.
- 194) Swain A. et al. DAX1 antagonizes SRY action in mammalian sex determination. *Nature.* 1998; (391), 761
- 195) Herrera H., Vergara M., et al. Diferenciación sexual en el sistema nervioso central. *Vet. Mex.* 2005; (36) (3), 339-360.
- 196) Pfaff D. W. *Estrogens and Brain Function. Neural analysis of a hormone-controlled mammalian reproductive behavior.* E.U.A.: Springer-Verlag; 1980. 123-268.
- 197) Allen L. S., Hines M., et al. Two sexually dimorphic cell groups in the human brain. *J Neurosci.* 1989; (9), 497-506.
- 198) Neil J., MacLuski N., Naftolin F. Differentiation of the central nervous system. *Science* 1981; (211), 1294-1302.
- 199) Hines M. Prenatal endocrine influences on sexual orientation and on sexually differentiated childhood behavior. *Front Neuroendocrinol.* 2011 Apr; 32(2): 170–182.
- 200) BreeLove S. M., Hampson E. Sexual differentiation of the brain and behavior. En: *Behavior endocrinology.* Cambridge Mass.: The MIT Press, Cambridge, Mass; 2002. 75-115.
- 201) Goy R. W., McEwen B. S. *Sexual differentiation of the brain.* U.K.: The MIT Press, Cambridge, Mass; 1980.
- 202) Hofman M. A., Swaab D. F. The sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in the human brain: a comparative morphometric study. *J Anat.* 1989; (164), 55-72.
- 203) Döhler K., Hines M., et al. Pre- and postnatal influence of an estrogen antagonist and androgen antagonist on differentiation of the preoptic area in male and female rats. *Neuroendocrinology.* 1986; (42), 443-448.
- 204) Pfaff D., Schwartz-Giblin S. Cellular mechanisms of female reproductive behaviors. En: E. Knobil, J. Neil, editors *The physiology of reproduction.* E.U.A.: Raven Press, Ltd; 1988. 1487-1568.

- 205) Arnold A., Gorski R. A. Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci.* 1984; (7), 413-442.
- 206) McEwen B. S. Neural gonadal steroid actions. *Science.* 1981; (211), 1303-1311.
- 207) Segovia S., Perez-Laso C., Guillamon A. Early postnatal diazepam exposure alters sex differences in the rat brain. *Brain Res Bull.* 1991; (26), 899-904.
- 208) McEwen B. S. Neural gonadal steroid actions. *Science.* 1981; (211), 1303-1311.
- 209) Shaila M., Portillo W. Activation of Progesterin receptors in female reproductive behavior: Interactions with neurotransmitters. *Front Neuroendocrinol.* 2010; (31) (2), 157-171.
- 210) Berlanga C., Huerta R. Los esteroides gonadales y la afectividad: el papel de las hormonas sexuales en la etiología y el tratamiento de los trastornos afectivos. *Salud Mental.* 1999; (23) (4), 10-21.
- 211) Beato M. Gene regulation by steroid hormone. *Cell.* 1989; (56), 335-344.
- 212) Antunes I., Da Silva A., et al. Cap. 8. The female rat. En: Whishaw I., Kolb B. *The behavior of the rat laboratory: A handbook with tests.* U.S.A.: Oxford University Press, Inc.; 2005. 103- 110.
- 213) Pfaff D., Sakuma Y. Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J Physiol London.* 1979; (288), 189-202.
- 214) Gorski R. A., Harlan R. E., et al. Evidence for the existence of a sexually dimorphic nucleus in the preoptic area of the rat. *J Comp Neurol.* 1980; (193), 529-539.
- 215) Montano M. M., Welshons W. V., Vom Saal F. S. Free estradiol in serum and brain uptake of estradiol during fetal and neonatal sexual differentiation in female rats. *Biol Reprod.* 1995; (53), 1198-1207.
- 216) Ansonoff M. A., Etgen A. M. Estradiol elevates protein Kinase C catalytic activity in the preoptic area of female rats. *Endocrinology.* 1998; (129), 3053-3056.
- 217) Jacobson C., Shryne J., et al. Ontogeny of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. *J Comp Neurol.* 1980; (193), 519-529.
- 218) Lauber M. Ontogeny of 5 alpha-reductase (type 1) messenger ribonucleic acid expression in rat brain: early presence in germinal zones. *Endocrinology.* 1996; (137), 2718-2730.
- 219) Serkan K., Erdem A. The effects of prenatal sex steroid hormones on sexual differentiation of the brain. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2013; (14) (3), 163-167.
- 220) Jennes L., Eyigor O., et al. Brain gonadotrophin releasing hormone receptors: localization and regulation. *Recent Progress in hormone research.* 1997; (52), 475-491.
- 221) Pombo A. M., Argemi J. *Tratado de endocrinología pediátrica.* México: Ediciones Díaz de Santos; 1997. 1440.
- 222) Remohí G. J., Valencia, L. M. Regulación neurohormonal de la función reproductora. El eje diencefalo-hipófisis- gónadas. En: Tomo 1. *Tratado de Obstetricia, Ginecología y Medicina de la Reproducción.* España: Panamericano; 2003.
- 223) Kiener M. Mecanismos y mediadores químicos involucrados en la ovulación en animales domésticos. *Revista FAVE- Ciencias Veterinarias.* 2010; (9).
- 224) Hsieh M., Lee D., et al. Luteinizing Hormone-Dependent Activation of the Epidermal Growth Factor Network Is Essential for Ovulation. *Molecular and cellular biology.* 2007; (27), 1914-1924
- 225) Shao R. Inhibition of small ubiquitin related modifier-1 expression by luteinizing hormone receptor stimulation is linked to induction of progesterone receptor during ovulation in mouse granulosa cells. *Endocrinology.* 1998; (145), 384-392.

- 226) Raehman I. M., Unnerstall J. R., et al. Estrogen alters behavior and forebrain e-fos expression in ovariectomized rats subjected to the forced swim test. *Proe Nati Aead Sei.* 1998; (95) (23), 13941-13946.
- 227) Márquez, D. C. Receptor de Estrógeno: Bases Moleculares Aplicadas a Medicina. Universidad de California, Los Ángeles. Escuela de Medicina. Departamento de Medicina, División de Hematología y Oncología. Academia Biomédica digital. 1998.
- 228) Smiley D. A., Khalil R. A. Estrogenic compounds, estrogen receptors and vascular cell signaling in the aging blood vessels. *Curr Med Chem.* 2009; (16) (15), 1863-1887.
- 229) Towle A. C., Sze P. Y. Steroid binding to synaptic plasma membrane: Differential binding of glucocorticoids and gonadal steroids *J. Steroid Biochem.* 1983; (18), 135-143.
- 230) Lethaby A., Hogervorst E., et al. Hormone replacement therapy for cognitive function in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008; (1), 3122.
- 231) Canchola M. E. Participación del sistema Ca²⁺/Calmodulina en el mecanismo de acción membranal de la Progesterona, para inducir la conducta sexual femenina en la rata hembra. [Doctorado en ciencias biológicas] México: Universidad Autónoma Metropolitana; 1998.
- 232) Orizaba B., Alba J. G., Ocharán H. A. Farmacocinética de la progesterona *Rev. Hosp. Jua. Mex.* 2013; (80), 59-66.
- 233) Majeswka M. D. Neurosteroids: endogenous bimodal modulators of the GABAA receptor. Mechanism of action and physiological significance. *Prog. Neurobiol.* 1992; (38), 379-395.
- 234) Emanuele M. A., Wezeman F., et al. Alcohol's Effects on Female Reproductive Function. [Sede Web]* E. U. A.: 2003. [Consultado: 19 Febrero 2017] En: <https://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh26-4/274-281.htm>
- 235) Buffet N. C., Djakoure C., et al. Regulation of the human menstrual cycle. *Front Neuroendocrinol.* 1998; (19), 151-186.
- 236) Marcondes F. K., Miguel K. J., et al. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav.* 2001; (74), 335-340.
- 237) Jenkins W., Becker J. Cap 29. Sex. 264. En: Whishaw I., Kolb B. The behavior of the rat laboratory: A handbook with tests. U.S.A.: Oxford University Press, Inc.; 2005. 307-310.
- 238) McCarthy M. M., Becker J. B. Neuroendocrinology of sexual behavior in the female. En: Behavioral endocrinology. Cambridge, Mass.: MIT Press/Bradford Books. 117-151.
- 239) Freeman M. E. The neuroendocrinology control of the ovarian cycle of the rat. En: The psychocology of reproduction, 2nd ed. New York: Raven Press, Ltd.; 1994.
- 240) Murphy B. D. Models of luteinization. *Biol Reprod.* 2000; (63), 2-11.
- 241) Richards J. S., Russell D. L., et al. Ovulation: new dimensions and new regulations of the inflammatory-like response. *Annv Rev Physiol.* 2002; (64), 69-92.
- 242) Rao M. C., Midgley A. R., Richards J. S. Hormonal regulation of ovarian cellular proliferation. *Cell.* 1978; (14), 71-78.
- 243) Smith M. S., Freeman M. E., et al. The control of progesterone secretion during the proestrus cycle and early pseudopregnancy in the rat: Prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology.* 1975; (96), 219-226.
- 244) Hernández P. E., Fernández R. F., Cortés S. "Fundamentos teórico prácticos de la citología exfoliativa en medicina veterinaria". CBS, Manual 5. UAM Unidad Xochimilco.
- 245) Soares C. N., Poitras J. R., Prouty J. Effect of reproductive hormones and selective estrogen receptor modulators on mood during menopause. *Drugs Aging.* 2003; (20) (2), 85-100.

- 246) Fallon J. H., Keator D. B., et al. Hostility differentiates the brain metabolic effects of nicotine. *Brain Res Cogn Brain Res*. 2004; (18) (2), 142-148.
- 247) Jones H. E., Griffiths R. R. Oral caffeine maintenance potentiates the reinforcing and stimulant subjective effects of intravenous nicotine in cigarette smokers. *Psychopharmacology*. 2003;(165) (3), 280-290.
- 248) Parry B. L. Perimenopausal depression. *Am J Psychiatry*. 2008; (165), 23-27.
- 249) Parry B. L. Optimal management of perimenopausal depression. *Int J Womens Health*. 2010; (9), 143-151.
- 250) Soares C. N., Zitek B. Reproductive hormone sensitivity and risk for depression across the female life cycle: a continuum of vulnerability? *J Psychiatry Neurosci*. 2008; (33), 331-343.
- 251) Parry B. L., Newton R. P. Chronobiological basis of female-specific mood disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2001; (25) (5), 102-108.
- 252) Pae C. U., Mandelli L., et al. Effectiveness of antidepressant treatments in premenopausal versus post-menopausal women: a pilot study on differential effects of sex hormones on antidepressant effects. *Biomed Pharmacother*. 2009; (63), 228-235.
- 253) Soares C. N., Almeida O. P. Depression during the perimenopause. *Arch Gen Psychiatry*. 2001; (58), 306.
- 254) Soares C. N., Cohen L. S. The perimenopause, depressive disorders, and hormonal variability. *Sao Paulo Med J*. 2001; (119), 78-83.
- 255) Harlow B. L., Wise L. A., et al. Depression and its influence on reproductive endocrine and menstrual cycle markers associated with perimenopause: the Harvard Study of Moods and Cycles. *Arch Gen Psychiatry*. 2003; (60), 29-36.
- 256) Freeman E. W., Sammel M. D., et al. Associations of hormones and menopausal status with depressed mood in women with no history of depression. *Arch Gen Psychiatry*. 2006; (63), 375-382.
- 257) Rajewska J., Rybakowski J. K. Depression in premenopausal women: gonadal hormones and serotonergic system assessed by D-fenfluramine challenge test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003; (27), 705-709.
- 258) Wagner E. J., Ronnekleiv O. K., Kelly M. J. The noradrenergic inhibition of an apamin-sensitive, small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel in hypothalamic gamma-aminobutyric acid neurons: pharmacology, estrogen sensitivity, and relevance to the control of the reproductive axis. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001; (299) (1), 21-30.
- 259) Wilkinson M., Herdon H. J. Diethylstilbestrol regulates the number of alpha- and beta-adrenergic binding sites in incubated hypothalamus and amygdala. *Brain Res*. 1982; (248) (1), 79-85.
- 260) Yoshioka M., Matsumoto M., et al. Changes in the regulation of 5-hydroxytryptamine release by alpha₂-adrenoceptors in the rat hippocampus after long-term desipramine treatment. *Eur J Pharmacol*. 1995; (294) (2-3), 565-370.
- 261) Karkanias G. B., Li C. S., Etgen A. M. Estradiol reduction of alpha₂-adrenoceptor binding in female rat cortex is correlated with decreases in alpha_{2A/D}-adrenoceptor messenger RNA. *Neuroscience*. 1997; (81) (3), 593-597.
- 262) Vega-Rivera M., López-Rubalcava C. The interaction of estrogens and noradrenaline in depression. *Salud Mental*. 2013; (36), 303-307.
- 263) Carlberg K. A., Fregly M. J. Catecholamine excretion and beta-adrenergic responsiveness in estrogen-treated rats. *Pharmacology*. 1986; (32) (3), 147-156.

- 264) Ghraf R., Michel M., et al. Competition by monophenolic estrogens and catecholestrogens for high-affinity uptake of [3H] (-)-norepineplvrine into synaptosomes from rat cerebral cortex and hypothalamus. *Brain Res.* 1983; (277) (1), 163-168
- 265) Hiemke C., Bruder D., et al. Sex-specific effects of estradiol on hypothalamic noradrenaline turnover in gonadectomized rats. *Exp Brain Res.* 1985; (59) (1), 68-72.
- 266) Serova L., Rivkin M., et al. Estradiol stimulates gene expression of norepinephrine biosynthetic enzymes in rat locus coeruleus. *Neuroendocrinology.* 2002; (75) (3), 193-200.
- 267) Ortega-Corona B. G., Valencia-Sanchez A., et al. Hypothalamic monoamine oxidase activity in ovariectomized rats after sexual behavior restoration. *Arch Med Res.* 1994; (25) (3), 337-340.
- 268) Bemardi M., Vergoni A. V., et al. Influence of ovariectomy, estradiol and progesterone on the behavior of mice in an experimental model of depression. *Physiol Behav.* 1989; (45) (5), 1067-1068.
- 269) Galea L. A., Wide J. K., Barr A. M. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression. *Behav Brain Res.* 2001; (122) (1), 1-9.
- 270) Dhir A., Kulkarni S. K. Antidepressant-like effect of 17beta-estradiol: involvement of dopaminergic, serotonergic, and (or) sigma-1 receptor systems. *Can J Physiol Pharmacol.* 2008; (86) (10), 726-735.
- 271) Estrada-Camarena E., Fernandez-Guasti A., López-Rubalcava C. Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology.* 2003; (28) (5), 830-838.
- 272) Estrada-Camarena E., López-Rubalcava C., Fernandez-Guasti A. Facilitating antidepressant-like actions of estrogens are mediated by 5-HT1A and estrogen receptors in the rat forced swimming test. *Psychoneuroendocrinology.* 2006; (31) (8), 905-914.
- 273) Morissette M., Di Paolo T. Sex and estrous cycle variations of rat striatal dopamine uptake sites. *Neuroendocrinology.* 1993; (58), 16-22.
- 274) Mansvelter H. D., McGehee D. S. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J. Neurobiol.* 2002. (53), 606-617.
- 275) Slotkin T.A. Nicotine and the adolescent brain: insights from an animal model. *Neurotoxicol. Teratol.* 2002. (24), 369-384.
- 276) Dwyer J.B., Broide R.S., Leslie F.M. Nicotine and brain development. *Birth Defects Res. C Embryo Today.* 2008. (84), 30-44.
- 277) Koylu E., Demirgören S., et al. Sex difference in upregulation of nicotinic acetylcholine receptors in rat brain. *Life Sci.* 1997; (61), 185-190.
- 278) Margolese H. C. The male menopause and mood: testosterone decline and depression in the aging male –Is there a link? *J Geriatr Psychiat Neurol.* 2000; (13), 93-101.
- 279) Schweiger U., Deuschle M., et al. Testosterone, gonadotropin, and cortisol secretion in male patients with major depression. *Psychosom Med.* 1999; (61), 292-296.
- 280) O'Connor D. B., Archer J., et al. Exogenous testosterone, aggression, and mood in eugonadal and hypogonadal men. *Physiol Behav.* 2002; (75), 557-566.
- 281) Rosellini R. A., Svare B. V., et al. The testosterone metabolite and neurosteroid 3β-androstanediol may indicate the effects of testosterone on conditioned place preference. *Brain Res Rev.* 2001; (37), 162-171.
- 282) Edinger K. L., Frye C. A. Androgens effects to enhance learning may be mediated in part through actions at estrogens receptor-beta in the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem.* 2007; (87), 78-85.

- 283) Jonsson G., Hallman H., et al. DSP4 N-(2-chloroethyl)-Nethyl-2-bromobenzylamine)- a useful denervation tool for central and peripheral noradrenaline neurons. *Eur J Pharmacol.* 1981; (72) (2-3), 173-188.
- 284) Edinger K. L., Lee B., Frye C. A. Mnemonic effects of testosterone and its 5alpha-reduced metabolites in the conditioned fear and inhibitory avoidance tasks. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004; (78), 559-568.
- 285) Park D., Tanaka M., et al. The testosterone metabolite and neurosteroid 3alpha-androstanediol may mediate the effects of testosterone on conditioned place preference. *Psychoneuroendocrinology.* 2001; (26), 731-750.
- 286) Herrera-Pérez J. J., Martínez Mota L., Fernández-Guasti A. Aging increases susceptibility to develop anhedonia in male rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat.* 2008; (32), 1798-1803.
- 287) Kirby L. G., Lucki I. The effect of repeated exposure to forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine in the rat. *Stress.* 1998; (2), 251-263.
- 288) Kirby L. G., Show-Green J. M., et al. The effect of different stressors on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid. *Brain Res.* 1997; (760), 218-230.
- 289) Lund T. D., Hinds L. R., Handa R. J. The androgen 5 α -dihydrotestosterone and its metabolite 5 α -androstan-3 β , 17 β -diol inhibit the hypothalamus-pituitary-adrenal response to stress by acting through estrogen receptor β -expressing neurons in the hypothalamus. *J Neurosci.* 2006; (26), 1448-1456.
- 290) Walf A. A., Frye C. A. Antianxiety and antidepressive behavior produced by physiological estradiol regime may be modulated by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Neuropsychopharmacology.* 2005; (30), 1288-1301.
- 291) Estrada-Camarena E., Fernández-Guasti A., López-Rubalcava, C. Different estrogenic compounds produce an antidepressant-like effect in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology.* 2003; (28), 830-838.
- 292) Shores T. J., Leuner B. Estrogen-mediated effects on depression and memory formation in females. *J Affect Dis.* 2003; (74), 85-96.
- 293) Detke M. J., Rickels M., Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differently produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology.* 1995; (21), 66-72.
- 294) McQueen J. K., Wilson H., et al. Serotonin transporter (SERT) mRNA and binding site densities in male rat brain affected by sex steroids. *Brain Res Mol Brain.* 1999; (63), 241-247.
- 295) Kakiuchi T., Tsukada H., et al. Effects of Aging on Serotonin Transporter Availability and its Response to Fluvoxamine in the Living Brain: PET Study with [11C] (+) McN5652 and [11C](-)McN5652 in Conscious Monkeys. *Synapse.* 2001; (40), 170-179.
- 296) Putnam S. K., Du J., et al. Testosterone restoration of copulatory behavior correlates with medial preoptic dopamine release in castrated male rats. *Horm Behav.* 2001; (39), 216-224.
- 297) Perkins K. A., Scott J. Sex differences in long-term smoking cessation rates due to nicotine patch. *Nicotine Tob. Res.* 2008; (10), 1245-1250.
- 298) Colby S. M., Tiffany S. T., et al. Are adolescent smokers dependent on nicotine? A review of the evidence. *Drug Alcohol Depend.* 2000; 59, 83-95.
- 299) Perkins K. A. Smoking cessation in women. Special considerations. *CNS Drugs.* 2001; (15), 391-411.
- 300) Mackay J. L., Amos A. Women and tobacco. *Respirology.* 2003; (8), 123-130.

- 301) Tejeda H. A., Natividad L. A., et al. Dysregulation of kappa-opioid receptor systems by chronic nicotine modulate the nicotine withdrawal syndrome in an age-dependent manner. *Psychopharmacology*. 2012; (224), 289-301.
- 302) Carroll M. E., Anker J. J., Perry J. L. Modeling risk factors for nicotine and other drug abuse in the preclinical laboratory. *Drug Alcohol Depend*. 2009; (104), 70-78.
- 303) Perkins K. A., Donny E., Caggiula A. R. Sex differences in nicotine effects and self-administration: review of human and animal evidence. *Nicotine Tob. Res.* 1999; (1), 301-315.
- 304) Hogle J. M., Curtin J. J. Sex differences in negative affective response during nicotine withdrawal. *Psychophysiology*. 2006; (43), 344-356.
- 305) Rodriguez-Landa J. F., Contreas C. M., et al. Allpregnanolone reduces immobility in the forced swimming test increases the firing rate of lateral septal neurons through action on the GABA_A receptor in the rat. *Journal of Psychopharmacology*. 2006; (21) (1), 76-84.
- 306) Jean-Philippe R., Bouvard M., Stinus S. Idazoxan and 8-OH-DPAT modify the behavioral effects induced by either NA, or 5-HT, or dual NA/5-HT reuptake inhibition in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*. 2001; (24), 379-390.
- 307) Maharjan S., Serova L., Sabban E. L. Transcriptional regulation of tyrosine hydroxylase by estrogen: opposite effects with estrogen receptors alpha and beta and interactions with cyclic AMP. *J Neurochem*. 2005; (93), 1502-1514.
- 308) Kandi P., Hayslett R. L. Nicotine and 17 β -estradiol produce an antidepressant-like effect in female ovariectomized rats. *Brain Res Bull*. 2011; (84) (3), 163-167.
- 309) Levin E.D., Slade S., et al. Threshold of adulthood for the onset of nicotine self-administration in male and female rats. *Behav. Brain Res*. 2011; (225), 473-481.
- 310) Park M.J., Breland D. Alcohol and cigarette use among adolescent and Young adult males. *Am. J. Men's Health*. 2007; (1), 339-346.
- 311) Vega-Rivera N. M., López-Rubalcava C., Estrada-Camarena E. The antidepressant-like effect of ethynyl estradiol is mediated by both serotonergic and noradrenergic systems in the forced swimming test. *Neuroscience*. 2013; (10) (250), 102-111.
- 312) Natividad L. A., Tejeda H. A., et al. Nicotine withdrawal produces a decrease in extracellular levels of dopamine in the nucleus accumbens that is lower in adolescent versus adult male rats. *Synapse*. 2010; (64), 136-145.
- 313) Mendelsohn C. Women who smoke e a review of the evidence. *Aust. Fam. Physician*. 2011; (40), 403-407.
- 314) Perkins K. A., Giedgowd G. E., et al. Smoking in response to negative mood in men versus women as a function of distress tolerance. *Nicotine Tob. Res.* 2012; (14), 1418-1425.
- 315) Pogun S., Yararbas G. Sex differences in nicotine action. *Handb Exp. Pharmacol*. 2009; (192), 261-291.
- 316) Greenfield S. F., Back S. E., et al. Substance abuse in men. *Psychiatr. Clin. North. Am.* 2010; (33), 339-355.
- 317) Perkins K. A. Sex differences in nicotine reinforcement and reward: influences on the persistence of tobacco smoking. *Nebr Symp Motiv*. 2009; (55), 143-169.
- 318) Connor T. J., Kelliher P., et al. Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced-swim test. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000; (65) (4), 591-597.
- 319) Bernardi M., Genadani S., et al. Effects of castration and testosterone in experimental models of depression in mice. *Behav Neurosci* 1989; (103), 1148-1150.