

# **INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

---

---

ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA

SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“VALORACION DE LA ANSIEDAD Y LA DEPRESION  
EXPERIMENTAL EN UN MODELO ANIMAL DE  
POSTMENOPAUSIA”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN FARMACOLOGÍA**

P R E S E N T A:

**M.C.Y P. AZUCENA LOURDES HERNÁNDEZ ARAGÓN**

DIRECTOR: DR. OFIR PICAZO PICAZO



MÉXICO, D.F.

JUNIO DE 2005





“El presente trabajo de tesis se realizó en el Laboratorio de Farmacología Conductual de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación en la Escuela superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección del Dr. Ofir Picazo Picazo.”

*A las personas más importantes en mi vida: mis padres Josefina y Ascención quienes han sido el mejor ejemplo en mi vida y mis hermanas Maricela, Blanca y Laura por su apoyo incondicional.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Instituto Politécnico Nacional y a la Escuela Superior de Medicina por abrirme sus puertas y brindarme todo lo necesario para desarrollarme tanto profesional como personalmente.

Agradezco al Programa Institucional de Formación de Investigadores y al Programa CONACYT por el apoyo otorgado.

Gracias al Dr. Ofir Picazo por todo lo que he aprendido al trabajar a su lado, por su tiempo, paciencia y dedicación, al igual que por todos sus consejos. Mil gracias a la Dra. Erika Estrada Camarena, por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme utilizar el equipo. También le agradezco haber sido una guía y un apoyo constante todo este tiempo, y no solo en lo académico; sino en lo personal.

A mis padres les agradezco infinitamente ser ejemplo, apoyo y compañía, ya que ellos han sido un gran motor que me impulsa a seguir adelante. Agradezco a todas las personas que de uno u otro modo ha estado conmigo todo este tiempo y me han apoyado para lograr cada una de mis metas.

Agradezco a los miembros del jurado:

Dr. Enrique Querejeta

Dr. Ignacio Valencia.

Dr. José G. Trujillo.

Dr. Lucia Martínez.

Dra. Erika Monserrat Estrada.

Dr. Ofir Picazo.

Por las observaciones hechas a mi trabajo, las cuales fueron muy valiosas.

# ÍNDICE

GLOSARIO	09
RELACIÓN DE FIGURAS	11
RESUMEN	12
ABSTRACT	14
INTRODUCCIÓN	15
Definición de postmenopausia	15
Alteraciones fisiológicas clínicas durante la postmenopausia	15
Cambios conductuales relacionados con la postmenopausia	17
¿Qué es la ansiedad?	18
Principales sistemas de neurotransmisión involucrados en la regulación de la ansiedad.	18
El sistema Gabaérgico y la ansiedad	19
El sistema serotoninérgico y la ansiedad	21
¿Qué es la depresión?	27
Sistemas de neurotransmisores involucrados en la regulación de la depresión	27
El sistema noradrenérgico y la depresión	29
El sistema serotoninérgico y la depresión	32
Relación entre los niveles hormonales ováricos, la ansiedad y la depresión.	34
Modelos animales de postmenopausia	37
Justificación	39
Hipótesis	40
Objetivos Generales	41
Objetivos particulares	42

Material y métodos	43
Modelos conductuales utilizados	44
Modelo de ansiedad	44
Modelo de depresión	46
Actividad locomotriz espontánea	48
Análisis estadístico	49
Descripción general	49
Resultados	52
Niveles de ansiedad y depresión	52
Efectos farmacológicos de algunos ansiolíticos y antidepresivos.	52
Discusión y conclusiones.	67
Ansiedad y hormonas	67
Depresión y hormonas	72
Bibliografía	78



## GLOSARIO

5-HIAA	Ácido 5-hidroxi-indol-acético
5-HT	Serotonina
5-HT <sub>1A</sub>	Receptor serotoninérgico subtipo 1 A
5-HT <sub>2</sub>	Receptor serotoninérgico tipo 2
5-HT <sub>3</sub>	Receptor serotoninérgico tipo 3
8-OH-DPAT	8- hidroxy -2 di-n- propylamino)tetralina hydrobromide
ANOVA de 2 factores	Análisis de varianza de dos factores
COMT	Catecolaminø transferasa
D <sub>1</sub>	Receptor dopaminérgico tipo 1
D <sub>2</sub>	Receptor dopamianérgico tipo 2
DOPAC	ácido-dihidroxi-fenil-acético
E2	Estrógenos
FSH	Hormona folículo estimulante
GABA	Ácido gama amino butírico
GABA <sub>A</sub>	Receptor a GABA tipo A
GABA <sub>B</sub>	Receptor a GABA tipo B
GABA <sub>C</sub>	Receptor a GABA tipo C
GABA-T	Receptor GABA transaminasa
GnRH,	Hormona estimulante de gonadotropina
IMAO	Inhibidores de la enzima monoamino oxidasa
IP	Intraperitonealmente
IRSS	Inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina
LH	Hormona luteinizante
MAO	Enzima monoamino oxidasa

NE	Noradrenalina
pCPA	para-cloro-fenilalanina
POVX	Postovariectomía
RNAm	Ácido ribonucleico mensajero

## RELACIÓN DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ilustración de las etapas cronológicas de la transición del estado reproductivo al no reproductivo.	11
<b>Figura 2.</b> Metabolismo de ácido gama-amino butírico	20
<b>Figura 3.</b> Subtipos de receptores a serotonina	23
<b>Figura 4.</b> Metabolismo de la serotonina	24
<b>Figura 5.</b> Mapa de las vías serotoninérgicas	20
<b>Figura 6.</b> Síntesis de la noradrenalina	30
<b>Figura 7.</b> Mapa de las vías noradrenérgicas	32
<b>Figura 8.</b> Modelo de ansiedad	45
<b>Figura 9.</b> <a href="#">Modelo de desesperanza</a>	48
<b>Figura 10.</b> Prueba de actividad espontánea.	54
<b>Figura 11.</b> Diagrama de flujo de la metodología	51
<b>Figura 12.</b> Ansiedad basal (panel superior) y actividad espontánea (panel inferior) de ratas ovariectomizadas 3, 6 y 12 semanas antes. * $p < 0.05$ contra el grupo de 3 semanas	54
<b>Figura 13.</b> Resultados del nivel de desesperanza de ratas ovariectomizadas 3, 6 y 12 semanas antes (panel superior) y actividad espontánea de las mismas (panel inferior)).	55
<b>Figura 14.</b> Efecto ansiolítico del 8-OH-DPAT sobre la conducta de enterramiento defensivo y la latencia de enterramiento	57
<b>Figura 15.</b> Efecto del 8-OH-DPAT sobre la actividad espontánea de ratas ovariectomizadas 3 o 12 semanas antes	58
<b>Figura 16.</b> Efecto ansiolítico del diacepam sobre la conducta de enterramiento defensivo y sobre la latencia de enterramiento de ratas previamente ovariectomizadas	60
<b>Figura 17.</b> Efecto del diacepam sobre la actividad espontánea de ratas ovariectomizadas 3 o 12 semanas antes.	61

**Figura 18** Efecto de la fluoxetina sobre las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento en la prueba de nado forzado en ratas \*p<0.05 en comparación con el grupo control tratado con solución salina. 63

**Figura 19.** Efecto de la fluoxetina sobre la actividad espontánea en ratas ovariectomizadas 3 o 12 semanas antes 64

**Figura 20** Efecto de la desimipramina sobre la conducta de inmovilidad, de nado y de escalamiento en la prueba de nado forzado en ratas en comparación con el grupo control tratado con solución salina 66

**Figura 21** Efecto de la desimipramina sobre la actividad espontánea total y ambulatoria 67

## RESUMEN

Este estudio analiza los efectos a largo plazo de la ovariectomía sobre la ansiedad y la depresión basal de las ratas, y la influencia de esta condición sobre las propiedades farmacológicas del diazepam, del agonista del receptor 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT, de la fluoxetina y de la desimipramina.

Ratas ovariectomizadas previamente (3,6 y 12 semanas) fueron evaluadas en el modelo de la conducta defensiva de enterramiento y en un aparato automatizado para medir su actividad espontánea. Los valores más altos de la conducta de enterramiento se observaron en el grupo de 12 semanas sin alteración de la actividad espontánea. Otros grupos de ratas previamente ovariectomizadas (3 y 12 semanas) fueron usadas para ensayar el efecto de los fármacos. Así, el diazepam a todas las dosis probadas indujo una disminución de la conducta de enterramiento, similar en los dos grupos. Contrariamente, el grupo de 12 semanas fue más responsivo a los efectos tranquilizantes del 8-OH-DPAT, mostrando una disminución de la mencionada conducta de enterramiento a expensas de un deterioro de la actividad general de los animales.

Por otro lado, no se encontraron diferencias conductuales que reflejaran cambios de depresión basal entre los 3 grupos estudiados de ratas. Sin embargo, se encontró que las ratas ovariectomizadas 12 semanas antes fueron más sensibles a los efectos de la fluoxetina, mostrando diferencias respecto al control desde la dosis baja. En contraste, la desimipramina disminuyó el tiempo de inmovilidad desde la dosis baja pero en el grupo de 3 semanas.

Los presentes resultados subrayan la prometedora utilidad de la ovariectomía a largo plazo como un modelo experimental válido para el estudio de los desórdenes psicológicos inherentes a la postmenopausia humana.

## ABSTRACT

This study analyzes the long-term effects of ovariectomy on the basal depression and anxiety of rats and the influence of this condition on the pharmacological properties of diazepam, the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT), fluoxetine and desipramine.

Rats ovariectomized 3, 6 and 12 weeks previously, were tested in the burying behavior paradigm and in an automatic activity counter. The highest values of burying behavior were observed in the 12-week group without altering the spontaneous activity. Other rats previously ovariectomized (3 and 12 weeks) were used to test the effect of the drugs. Thus, diazepam at all doses tested induced a decrease in burying behaviour, which was similar in all both groups. Contrarily, the 12-week group was more responsive to 8-OH-DPAT, showing a decrease in the time spent in burying behaviour at the expense of an impairment in the animal's general activity.

On the other hand, there were not behavioral differences in the basal depression among the three studied groups. However, it was found that the 12 week group was more sensitive to antidepressive actions of fluoxetine, showing differences from the lower dose in comparison with the control group. In contrast, desipramine decrease the time spent in immobility from the lower dose in the 3 week group.

Present results underline the promising utility of the long-term ovariectomy as a valid animal model to study the psychological disturbances associated with human menopause.

# INTRODUCCION

## Definición de postmenopausia

La transición de un estado vital reproductivo a uno no reproductivo se le conoce como perimenopausia. La menopausia se define clínicamente como el último periodo menstrual de la mujer. Así, la perimenopausia se divide en dos fases: la premenopausia y la postmenopausia. Por lo tanto, la postmenopausia, se define cronológicamente como el tiempo posterior a la menopausia. Durante esta etapa fisiológica la mujer ha perdido su capacidad reproductiva y se caracteriza por una gran variedad de signos y síntomas.

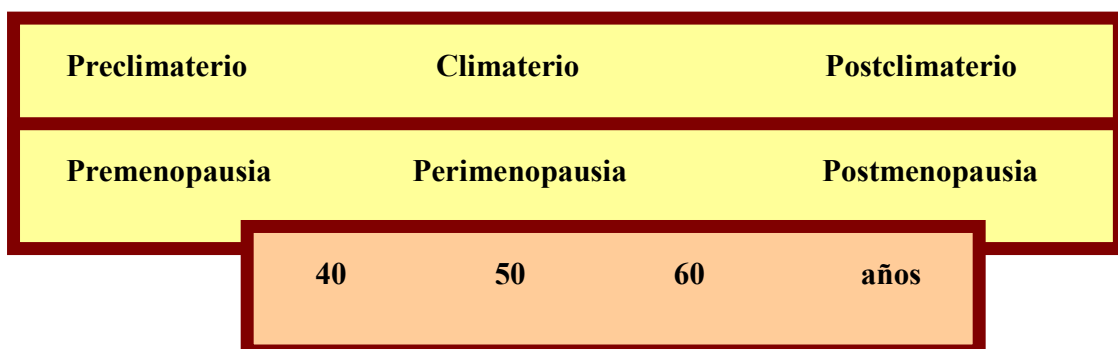


Fig 1 .-Ilustración de las etapas cronológicas de la transición del estado reproductivo al no reproductivo.

## Alteraciones fisiológicas clínicas durante la postmenopausia

En forma general, este periodo postmenopáusico se caracteriza por presentar cambios hormonales tales como, un aumento en la concentración y una disminución en la frecuencia de liberación de las hormonas: liberadora de gonadotropinas (GnRH), folículoestimulante (FSH) y luteinizante (LH), una disminución severa de los niveles de 17 B-estradiol y una disminución moderada de

andrógenos, prolactina e inhibina B, quedando la estrona como el principal representante estrogénico circulante (McEwen y Alves 1999). Clínicamente, se han observado alteraciones en algunos sistemas:

- Reproductivo. Algunos autores le llaman alteraciones locales, como son la atrofia de genitales externos e internos lo cual favorece la predisposición a las infecciones y procesos inflamatorios (Gonzalez Merlo. Ginecología).
- Vasomotor. Epidemiológicamente, del 11 al 60% de las mujeres perimenopáusicas sufren alteraciones vasomotoras que incluyen la sensación de calor y diaforesis tanto matutinas como nocturnas (Kronenberg 1990).
- Cardiovascular. Se ha reportado un incremento en el riesgo e incidencia de cardiopatías, como hipertensión, infarto al miocardio, trombosis y embolias (Adams y cols. 1996, Owens y cols. 1993,).
- Metabólico. Hay una disminución de las lipoproteínas de alta densidad y un incremento de las lipoproteínas de muy baja densidad facilitando una mayor incidencia de hipercolesterolemia y dislipidemias.
- Óseo. Se presenta un desbalance entre la formación y la resorción ósea, siendo mayor esta última (Christiansen, 1995, Lindsay 1996). Inicialmente, hay una rápida pérdida ósea (durante los años posteriores inmediatos a la postmenopausia), la cual progresivamente se hace más lenta. En estas mujeres también disminuye la absorción de calcio intestinal, lo cual contribuye a la pérdida ósea (Lindsay, R 1996).
- Sistema Nervioso Central. La postmenopausia y los bajos niveles hormonales se han relacionado con una mayor incidencia de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (Fillit 1994, Paganini-Hill, 1994, Tang y cols. 1996,



Kawas y cols. 1997) y con algunos desórdenes psiquiátricos. Por ejemplo, se ha reportado mayor incidencia de esquizofrenia en hombres y en mujeres en fase folicular que en mujeres con niveles estrogénicos normales y se ha encontrado un pico en la incidencia de esta patología en mujeres mayores de 40 años y (Angermeyer y Kühn 1988, Huber y cols. 2001). Asimismo, aumenta la frecuencia de algunos síntomas de depresión (melancolía y desesperanza entre otros), ansiedad y síntomas psicósomáticos (entumecimiento, dolor muscular, palpitaciones y vértigo entre otros) en los años siguientes al cese de la menstruación (Prior 1998).

### **Cambios conductuales relacionados con la postmenopausia**

Entre los trastornos psiquiátricos comúnmente asociados a esta etapa se encuentran la ansiedad y la depresión (Halbreich y Kahn, 2001). Desde hace tiempo se ha asociado la menopausia con la aparición de labilidad emocional, irritabilidad, melancolía, así como síntomas físicos y de dolor, sugiriendo un subtipo de desorden psiquiátrico asociado a la postmenopausia (Robinson 2001, Prior 1998). Aunque algunos estudios no han encontrado relación entre anormalidades hormonales y depresión postmenopáusica (Robinson 2001), otros trabajos muestran que las mujeres que sufrieron depresión postparto o síndrome premenstrual, tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad depresiva durante la menopausia (Robinson 2001). McKinlay y cols. (1987) encontraron que en mujeres con menopausia quirúrgica (la cual ocurre después de la extirpación quirúrgica de las glándulas ováricas debido a algún trastorno o enfermedad) presentaban niveles mayores de síntomas vasomotores, depresivos, ansiogénicos e insomnio que en mujeres con menopausia natural.

Dado que en este trabajo se tratará de explorar la influencia de las hormonas esteroides sobre la regulación de la ansiedad y la depresión, conviene definir cada uno de estos trastornos del estado de ánimo.

### **Que es la ansiedad?**

Actualmente, la ansiedad se ha definido como una emoción normal que permite la adaptación a circunstancias amenazadoras y se considera que forma parte de la reacción evolutiva de supervivencia de lucha- huída. Sin embargo, cuando la ansiedad es desproporcional en intensidad y duración al estímulo desencadenante constituye una mala adaptación o respuesta inapropiada y se convierte en una ansiedad patológica (trastorno psiquiátrico). Este trastorno se ha definido como un estado displacentero caracterizado por intranquilidad y expectación aprehensiva, que se acompaña de una serie de reacciones vegetativas como sudoración, temblor, taquicardia, irritabilidad, tensión muscular y desajuste del sueño entre otros, lo cual causa una aflicción clínicamente significativa o un deterioro de la función social, laboral o de otras áreas importantes (Rosenbaun 1982, DSM-IVR 2000).

### **Principales sistemas de neurotransmisión involucrados en la regulación de la ansiedad.**

A partir de los hallazgos encontrados en los estudios de Farmacología Conductual se ha propuesto la participación de varios sistemas de neurotransmisión en la regulación de la ansiedad: los sistemas GABAérgico, noradrenérgico y serotoninérgico. El sistema noradrenérgico participa en menor proporción. Se ha descrito que la hiperactividad de las neuronas noradrenérgicas incrementa algunos síntomas relacionados a la ansiedad. Aún así, la inhibición de la liberación de norepinefrina bloquea síntomas como taquicardia, pupilas dilatadas, sudoración y temblor; pero no modifica los

síntomas subjetivos y emocionales (Stahl 2002). Por lo tanto nos enfocaremos a los sistemas GABAérgico y serotoninérgico en la regulación de la ansiedad.

### **El sistema GABAérgico y la ansiedad**

El papel del sistema GABAérgico en la ansiedad esta fuertemente sustentado en la eficacia indiscutible de las benzodiazepinas que potencian la actividad GABA sobre los receptores GABA<sub>A</sub> en el tratamiento de la ansiedad. Por lo tanto describiremos brevemente la composición de este sistema.

El sistema GABAérgico es el principal mecanismo inhibitorio del sistema nervioso central. Este sistema esta conformado por las neuronas GABAérgicas, el neurotransmisor ácido gama-amino-butírico (GABA) y sus 3 receptores. El glutamato es el aminoácido precursor del GABA, procede de los almacenes intraneuronales de los aminoácidos, es un aminoácido no esencial y es el más abundante en forma libre dentro del sistema nervioso central. El ácido gama-amino-butírico se sintetiza a partir de la descarboxilación del ácido glutámico, reacción catalizada por la enzima ácido glutámico descarboxilasa y se degrada por medio de la enzima GABA-alfa-oxoglutarato transaminasa (GABA-T) a semialdehído succínico el cual, por medio del ciclo de Krebs puede volver a formar ácido glutámico. La neurona GABAérgica tiene un transportador de recaptura (bomba de recaptura) similar a la de las monoaminas. Este transportador finaliza la acción del GABA sináptico eliminándolo de la hendidura sináptica para su re-almacenamiento o su destrucción por la enzima GABA transaminasa.

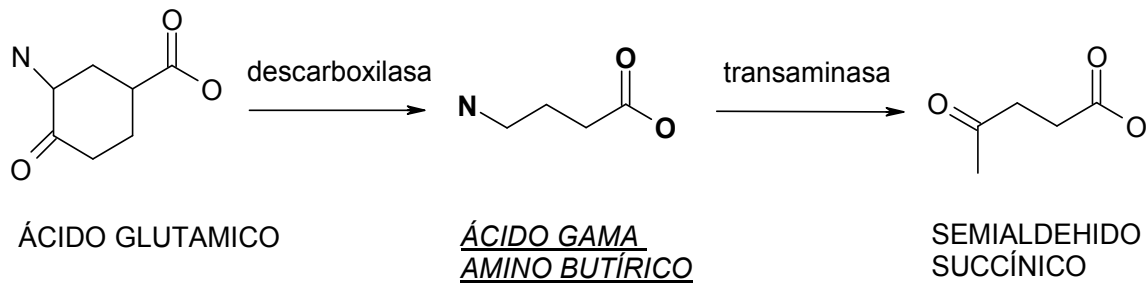


Fig 2 - Metabolismo del ácido gama-amino butírico

Los receptores para GABA regulan la neurotransmisión GABAérgica. Existen tres subtipos conocidos de receptores GABA, denominados GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub>.

Los receptores GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub> son metabotrópicos acoplados a canales de calcio y potasio a través de la vía de las proteínas G. La activación de estos receptores incrementa la conductancia al potasio y disminuye al calcio. Su papel fisiológico parece estar relacionado con acciones miorrelejantes (Armstrong RW y cols. 1997; Lydiard R.B. 2003).

El receptor GABA<sub>A</sub> es un receptor ionotrópico a Cl<sup>-</sup> el cual al activarse hiperpolariza la neurona inhibiendo la neurotransmisión y es el más relacionado en la modulación de la ansiedad. Esta conformado por un conjunto de subunidades que son modulados por diferentes moléculas (DeLorey y Olsen 1992, Twyman y Macdonald 1991, Olsen 1994). Además del sitio principal de reconocimiento a GABA, el receptor GABA<sub>A</sub> tiene varios sitios de reconocimiento alostérico dentro de los que se incluyen sitios modulados por sedantes-hipnóticos no benzodiazepínicos -como el zolpidem, y el zaleplon- para picrotoxina, por barbitúricos anticonvulsivos, por el alcohol y un

sitio para algunos neuroesteroides y esteroides neuroactivos como la progesterona y algunos metabolitos de ella, así como algunos metabolitos de la corticosterona. Desde hace tiempo se reconoce el sitio alostérico modulado por benzodiazepinas, como sitio benzodiazepínico. Se han descrito varios sitios anatómicos en el sistema nervioso central donde las benzodiazepinas realizan su efecto modulador, los cuales pueden estar relacionados a los efectos terapéuticos y los efectos secundarios de estos fármacos. De hecho, se ha especulado sobre la existencia de una benzodiazepina endógena producida en el cerebro, lo cual, aunque no se ha demostrado, ha llevado a la teoría de que la modulación del complejo receptor GABA-benzodiazepina constituye la base de las acciones farmacológicas contra la ansiedad, y esto mismo actúe para modular la emoción de la ansiedad por esa supuesta benzodiazepina endógena o endocepina. Se ha especulado, por lo tanto, que la disminución de las acciones del GABA y la benzodiazepina endógena esté asociada a la ansiedad, ya sea normal o patológica. Esta demostrado, que las benzodiazepinas son moduladores alostéricos positivos de la neurotransmisión de inhibición rápida del GABA sobre los receptores GABA<sub>A</sub>.

### **El sistema serotoninérgico y la ansiedad**

Inicialmente, la idea de que la serotonina puede estar involucrada en el control de la ansiedad produciendo efectos ansiogénicos, se obtuvo cuando se observó que los antagonistas serotoninérgicos como la metisergida (Meert y Colpaert 1986), la ciproheptadina (Schoenfeld 1976) y la cinanserina (Davis 1987) producían efectos ansiolíticos en diversos modelos de ansiedad. Además, los inhibidores de la síntesis de serotonina como la p-clorofenilalanina o la lesión del sistema serotoninérgico con la administración de la neurotoxina 5, 7-dihidroxitriptamina también producían efectos ansiolíticos (Lucki 1996). Asimismo, se ha

observado los efectos terapéuticos en los trastornos de ansiedad de los antidepresivos serotoninérgicos como la clomipramina y la efectividad de la buspirona (agonista 5-HT<sub>1A</sub>).

EL sistema serotoninérgico se encuentra conformado por las neuronas productoras del neurotransmisor 5-H-hidroxi-triptamina (5-HT) o serotonina simplemente, la misma serotonina y sus hasta hoy descritos, catorce subtipos de receptores, los cuales están involucrados en una gran variedad de efectos fisiológicos y farmacológicos. La clasificación actual de estos subtipos de receptores esta basada en criterios de semejanza estructural, fisiológica y funcional (Hoyer y cols. 1994, Barnes y Charp 1999). Se consideran 7 familias principales de receptores.

5-HT <sub>1A</sub>	Núcleo del rafé, áreas límbicas, hipocampo.
5-HT <sub>1B</sub>	Súbiculo sustancia nigra
5-HT <sub>1D</sub>	Núcleo accumbens, S. nigra. Globo palido.
5-HT <sub>1E</sub>	Globo palido, amígdala, corteza frontal y entorrinal, hipocampo.
5-HT <sub>1F</sub>	Corteza, hipocampo, nucleo caudado.
5-HT <sub>2A</sub>	Corteza claustrum y ganglios basales.
5-HT <sub>2B</sub>	Cerebelo, séptum, hipotálamo y amígdala.
5-HT <sub>2C</sub>	Plexo coroideo.
5-HT <sub>3</sub>	Hipocampo, área postrema, tracto solitario.
5-HT <sub>4</sub>	Sistema olfatorio, sistema límbico, hipotálamo, corteza hipocampo.
5-HT <sub>5A</sub>	Cerebelo, hipocampo, hipotálamo, corteza.

5-HT <sub>5B</sub>	Subiculo, hipocampo, núcleo dorsal del rafé, bulbo olfatorio.
5-HT <sub>6</sub>	N. accumbens, tubérculo olfatorio, hipocampo.
5-HT <sub>7</sub>	Hipocampo, hipotálamo, corteza.

Fig 3.- Subtipos de receptores a serotonina.

Con excepción del receptor 5-HT<sub>3</sub> (el cual es receptor ionotrópico ligado a canales selectivos a cationes, los demás son receptores metabotrópicos ligados a proteínas G los cuales se enlazan a la vez a un sistema de efectores intracelulares. La síntesis de la serotonina se produce a partir de su aminoácido precursor el triptófano, el cual es convertido a 5-hidroxi-triptófano mediante la acción de dos enzimas. Finalmente se degrada por medio de la enzima mono amino oxidasa (MAO) al metabolito inactivo, el ácido 5-hidroxi-indol-acético (5-HIAA). La neurona serotonérgica también tiene una bomba presináptica de transporte selectiva para serotonina, denominada transportador serotonérgico.

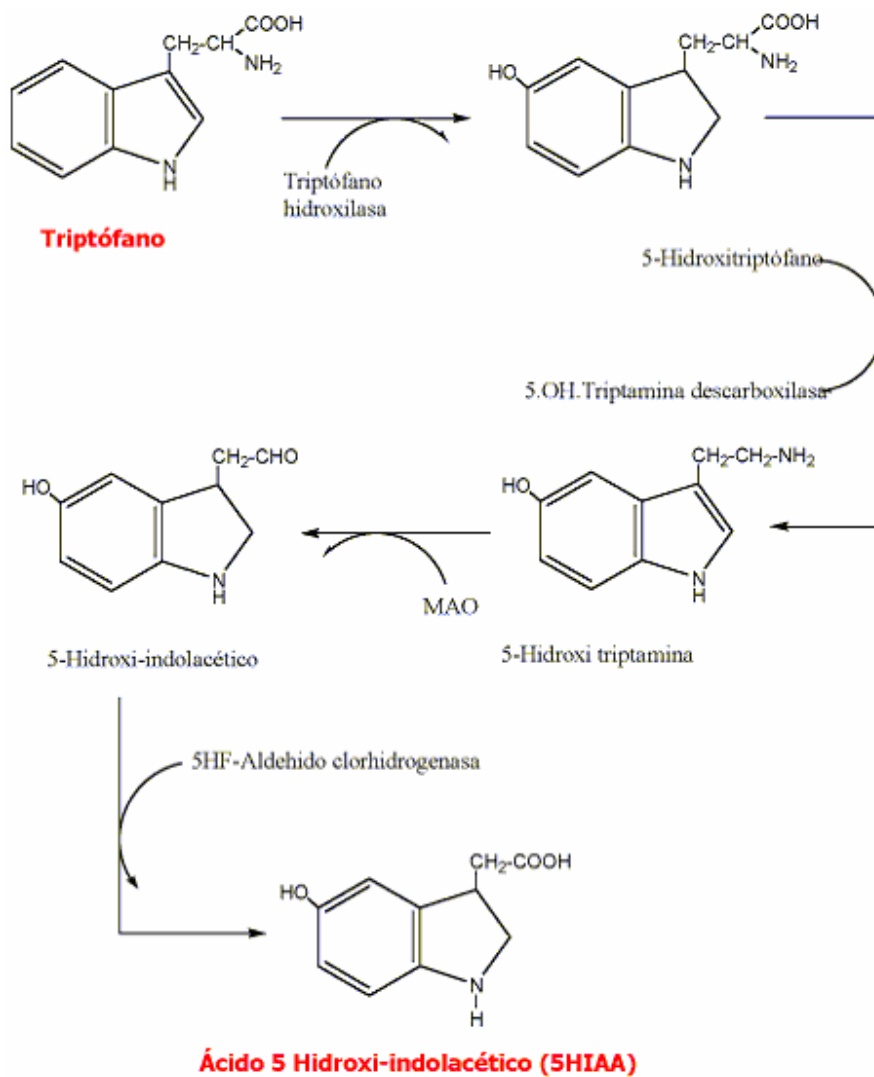


Fig 4.- Síntesis y metabolismo de la serotonina.

La regulación de la secreción de la serotonina esta dada por dos autorreceptores principalmente: los subtipos 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>1D</sub>. El primero, intimamente relacionado con la regulación de la ansiedad.

Se ha propuesto que la existencia del receptor 5-HT<sub>1A</sub> puede producir efectos ansiolíticos o ansiogénicos según su localización en la neurona: cuando se encuentra presinápticamente puede producir efectos ansiolíticos y cuando se encuentra postsinápticamente se



producen efectos ansiogénicos (Lucki 1992). Se propone que esto es debido a que en algunos estudios en animales la estimulación de receptores presinápticos disminuye la liberación de serotonina (Sprouse y Aghajanian 1988, Kreiss y Lucki 1995) como sucede en la estimulación por agonistas, como el 8-hidroxi-2-(di-n-propilaminotetralina) [8-OH-DPAT] o la buspirona (Lucki 1996). Por lo contrario, la estimulación de receptores postsinápticos estimula la secreción de serotonina y la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal, incrementando la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) (Fuller 1992, Screiber y De Vry 1993).

Los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas se encuentran en el núcleo del rafé y de ahí hace varias conexiones de las cuales las que llegan al área límbica pueden estar regulando la ansiedad y el pánico.

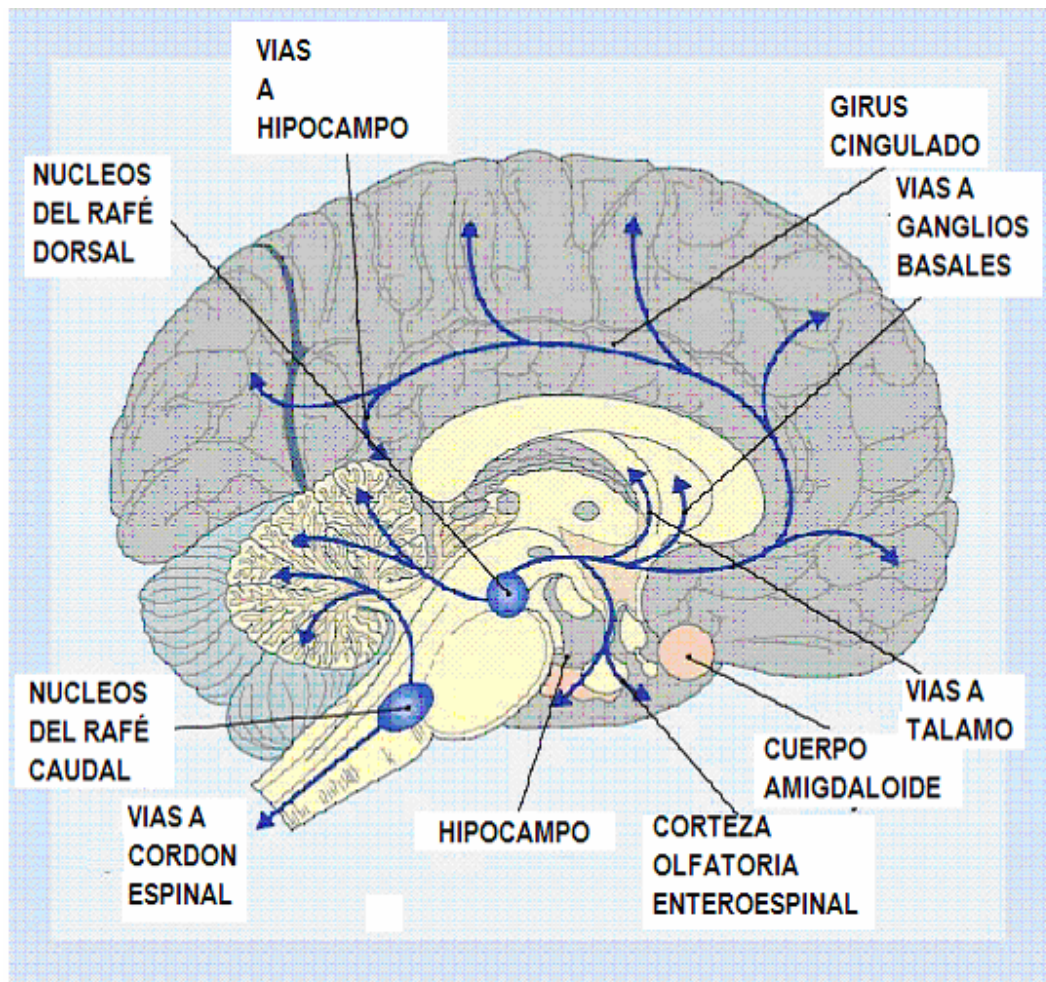


Fig 5.- Mapa de las vías serotonérgicas.

Se han localizado receptores 5-HT<sub>1A</sub>, por medio de estudios de autorradiografía, inmunocitoquímica e inmunorreactividad, en la primera capa de células (CA1) y en el giro dentado del hipocampo, en el septum, en la amígdala central, en la corteza entorrinal y en la corteza frontal. Se propone que en estas regiones el receptor es de tipo postsináptico (Marcinkiewicz y cols. 1984, Hoyer 1994) mientras que, los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en los núcleos del rafe medial y dorsal (Hamon y cols. 1990, Sotelo y cols. 1990) son presinápticos, también llamados somatodendríticos (por encontrarse en los somas y dendritas neurales).

## **Que es la depresión?**

La depresión es un estado de ánimo universalmente experimentado por prácticamente todas las personas en algún momento de su vida en respuesta a situaciones adversas como pérdida de algún ser querido (pérdida moral o real) o falla en la realización de metas. Se caracteriza por estado de ánimo aplanado, de tristeza, con sentimientos de desesperanza, desinterés e incapacidad para experimentar placer por casi todo (anhedonia), un marcado deterioro funcional, preocupación mórbida con sentimientos de desvalorización, culpabilidad y desesperación, baja autoestima, ideación suicida, síntomas psicóticos o retraso psicomotor acompañado de varios síntomas vegetativos como pérdida o ganancia de peso, insomnio o hipersomnio, fatiga inexplicable con pérdida de la energía, disminución de la habilidad de concentración (Kaplan y cols. 1991). Algunas veces se presentan síntomas orgánicos como dolor localizado, alteraciones digestivas severas o dificultades respiratorias. Se utilizan criterios diagnósticos aceptados y estandarizados para diferenciar la depresión "normal" (causada por una decepción, una pérdida o por tener un "mal día") de la depresión patológica. Los criterios diagnósticos para los trastornos afectivos están en constante evolución, estableciéndose las nosologías actuales a partir del DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4° Edición) en Estados Unidos y del ICD-10 (International Classification of Diseases) en otros países.

## **Sistemas de neurotransmisores involucrados en la regulación de la depresión**

Inicialmente se propuso una teoría en la cual se proponía que el origen biológico de la depresión era debido a una deficiencia de alguna de las aminas biógenas principalmente serotonina, noradrenalina o dopamina. Esto fue apoyado por las observaciones

de que los fármacos conocidos por su efecto antidepresivo, incrementaban los niveles de serotonina y/o noradrenalina. (Duman 1998). Poco después, se observaron ciertas contradicciones, por ejemplo, el retardo en la efectividad antidepresiva de los fármacos, ya que, a pesar del incremento temprano en los niveles de los neurotransmisores, el efecto antidepresivo no se observaba hasta después de algunas semanas de iniciado el tratamiento. Estos hallazgos desviaron la atención y propusieron la posibilidad de una alteración en los receptores que, aunque aún no puede explicar completamente el efecto terapéutico de los antidepresivos, sí propone una mejor explicación para este mecanismo de acción tan complejo (Stahl 2002). Se observó que casi todos los antidepresivos se asocian a largo plazo a un descenso en la sensibilidad de los receptores postsinápticos B-adrenérgicos y los receptores 5-HT<sub>2</sub> entre otros (Kaplan 2001). Entonces se propuso la teoría de los receptores de neurotransmisores, la cual postula que hay un desbalance entre los receptores presinápticos y postsinápticos de los principales neurotransmisores monoaminérgicos, lo cual, dificulta el adecuado funcionamiento de los mismos. Se sugiere que tal alteración puede estar causada por un agotamiento de los neurotransmisores monoaminérgicos, lo cual causa una regulación compensatoria a la alza de algunos receptores de estas aminas biógenas relacionados con el estado de ánimo depresivo. Se propone que el incremento de las aminas biógenas produce una adaptación de los receptores de tal manera que mantengan el control homeostático de la neurotransmisión. Así, a pesar de que los niveles de estos receptores se reducen, no se eliminan completamente durante el tratamiento crónico antidepresivo. Por lo tanto, existen suficientes receptores que responden a los niveles elevados del neurotransmisor (5-HT o NE). Esto sugiere que la activación de estos receptores puede regular e incrementar las cascadas de señalización intracelular

de tal manera que puedan regular algunas proteínas o genes que de alguna manera culminan en el efecto terapéutico antidepresivo (Stahl 2002).

En estudios recientes se ha involucrado a la dopamina en la fisiopatología de la depresión. Se ha sugerido que la actividad dopaminérgica está disminuida en la depresión. Los fármacos que reducen la concentración de dopamina como la reserpina y las enfermedades que reducen también estas concentraciones (como la enfermedad de Parkinson) se han relacionado con síntomas depresivos. Contrariamente, las sustancias que incrementan las concentraciones de dopamina como las anfetaminas, la tirosina y el bupropion reducen la sintomatología depresiva. Recientemente se ha sugerido que la vía dopaminérgica mesolímbica podría estar alterada en la depresión y existir una hipoactividad en el receptor dopaminérgico tipo 1 D<sub>1</sub>.

Dado que la noradrenalina y la serotonina son las aminas biógenas más asociadas a la depresión, no enfocaremos en sus sistemas involucrados.

### **El sistema noradrenérgico y la depresión**

El sistema noradrenérgico está compuesto por su neurotransmisor la noradrenalina (NE), las neuronas noradrenérgicas y de sus receptores alfa y beta. La síntesis de NE inicia con la tirosina. Una vez dentro de la neurona, interviene sobre la tirosina una secuencia de tres enzimas que convierten la tirosina a dihidroxifenilalanina (DOPA), dopamina y finalmente a noradrenalina (NE), la cual es empaquetada en las vesículas presinápticas hasta que es liberada por un impulso nervioso. Existen dos enzimas encargadas de la degradación de noradrenalina: La monoaminoxidasa (MAO), que se localiza principalmente en las mitocondrias de la neurona presináptica y la catecol-O-

metiltransferasa (COMT), localizada principalmente fuera de la terminal nerviosa presináptica.

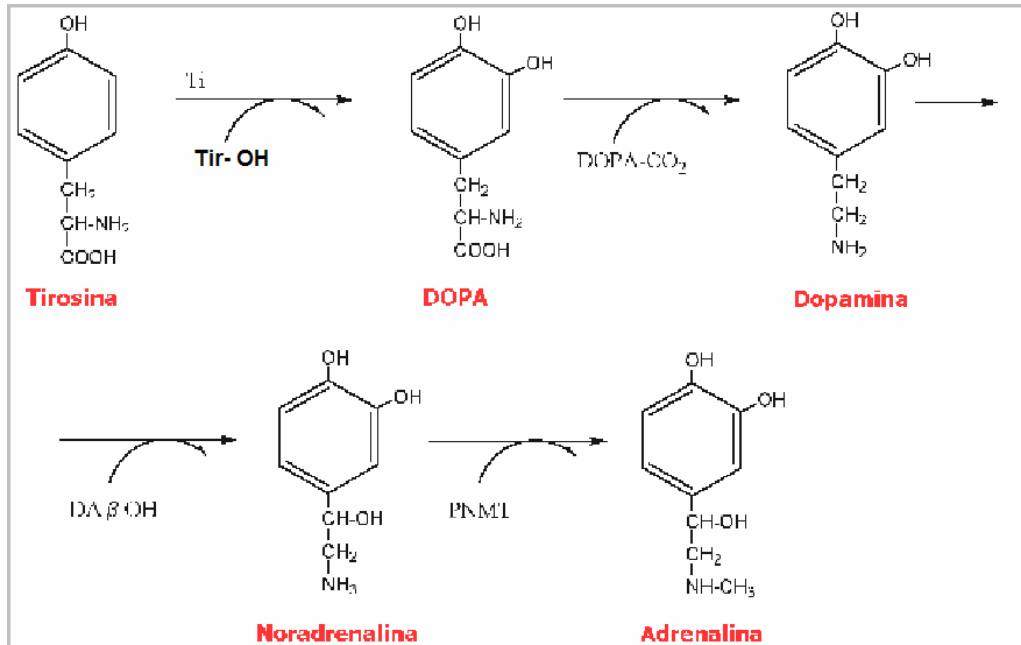


Fig 6.- Síntesis de la noradrenalina.

Además del mecanismo de degradación metabólica, la NE también se elimina de la sinapsis por medio de una bomba de transporte de NE, que impide que actúe en la sinapsis aún sin destruirla. De hecho, la NE desactivada puede volver a ser almacenada para ser usada de nuevo en un impulso nervioso posterior. La bomba de transporte que acaba con la acción sináptica de la NE se denomina, en algunas ocasiones, transportador de NE, y en otras, bomba de recaptura de la NE.

La neurona noradrenérgica se regula por múltiples receptores de NE, en la división clásica, los receptores noradrenérgicos se clasificaron como alfa ( $\alpha$ ) o beta ( $\beta$ ), en función de su preferencia por una serie de agonistas y antagonistas. Después éstos se subclasificaron en  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_2$ . De estos receptores se han identificado como presinápticos al receptor alfa  $\alpha_2$  y como

postsinápticos a los receptores  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\beta_1$ . El receptor  $\beta_2$  se ha reportado como pre y postsináptico.

Se sabe que la administración de agonistas o antagonistas  $\alpha_2$  no tiene efecto sobre el estado de ánimo aunque puede incrementar las conductas activas en algunos modelos experimentales (Duman 1998).

Se ha sugerido una correlación entre la regulación a la baja de los receptores  $\beta$  adrenérgicos y la respuesta clínica a los antidepresivos, lo cual, probablemente es el dato más relevante para evidenciar el papel del sistema noradrenérgico en la depresión. Aunque el tratamiento crónico con antidepresivos produce una regulación a la baja del receptor  $\beta_1$  en las regiones del sistema límbico como corteza cerebral e hipocampo (Vetulani y Sulser 1975, Banerjee y cols. 1977), Algunos modelos experimentales han mostrado que algunos agonistas del receptor  $\beta_1$  tienen efectos antidepresivos (Tatarczynska 2005). Otras evidencias también han implicado a los receptores presinápticos  $\beta_2$ -adrenérgicos en la depresión, ya que la activación de estos receptores produce una disminución de la cantidad de noradrenalina liberada. Los receptores  $\beta_2$  adrenérgicos también se encuentran en las neuronas serotoninérgicas y regulan la cantidad de serotonina liberada. La existencia de sustancias antidepresivas efectivas en la clínica casi exclusivamente noradrenérgicas como la desimipramina avala aún más el papel de la noradrenalina en la fisiopatología de la depresión al menos de sus síntomas.

La mayoría de los cuerpos celulares noradrenérgicos se localizan en el tronco cerebral, en un área conocida como *locus coeruleus*. De las múltiples vías noradrenérgicas se sugiere que una proyección desde el *locus coeruleus* a la corteza frontal es la responsable de las acciones reguladoras de la NE sobre el estado de

ánimo, bajo la modulación de receptores  $\beta_1$ . La proyección desde el locus coeruleus a la corteza límbica puede regular las emociones, así como la energía, la fatiga y la agitación o el retraso psicomotor (Stahl 2002)

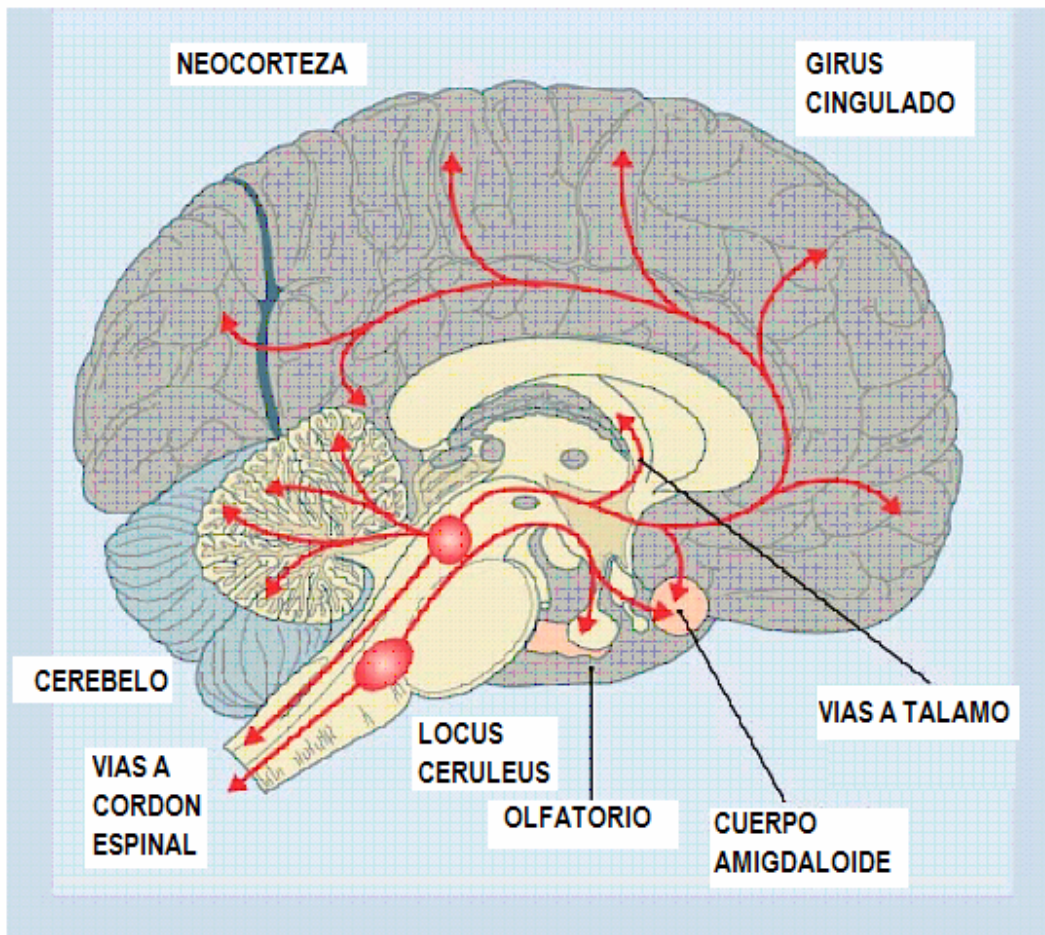


Fig 7.- Mapa de las vías noradrenérgicas.

### **El sistema serotoninérgico y la depresión**

Como ya se ha descrito anteriormente, el sistema serotoninérgico esta compuesto por la serotonina (5-HT), las neuronas serotoninérgicas y los receptores. La primera asociación del sistema serotoninérgico al desorden depresivo es debida a lo siguiente:



1) Se sabe que los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina son activos en el tratamiento de depresión unipolar mayor (Stahl 2002).

2) La actividad terapéutica de algunos antidepresivos se reduce después de la administración de para-cloro-fenilalanina (PCPA), un inhibidor de la síntesis de 5-HT, aunque no con alfa-metil-paratirosina un inhibidor de la síntesis de catecolaminas (Borsini 1995).

3) Una dieta libre de triptófano –el precursor de la síntesis de la 5-HT-, puede causar un estado de ánimo plano en pacientes con tratamiento antidepresivo con inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (Young y cols. 1985, Miller y cols. 1996).

Algunos estudios electrofisiológicos indican que el tratamiento antidepresivo crónico incrementa la neurotransmisión del receptor postsináptico 5-HT<sub>1A</sub> en el hipocampo. Se ha visto que la administración crónica de IMAO o IRSS conduce a una desensibilización de los autorreceptores presinápticos presentes en las neuronas serotoninérgicas y sus terminales nerviosas y esto incrementa finalmente los niveles sinápticos de 5-HT. (Blier y cols. 1988, De Montigny y Blier 1984, 1994). Se sabe que algunos agonistas al receptor 5-HT<sub>1A</sub> ejercen efectos tipo antidepresivos en algunos modelos experimentales (Middlemiss y Fozard 1983, Wieland y Lucki 1990, tomado de Lucki y cols. 1994) a través de la estimulación presináptica. Se sugiere que la estimulación de los autorreceptores produce una disminución de la descarga de neuronas serotoninérgicas inhibiendo la síntesis de serotonina y por lo tanto una disminución de serotonina en las terminales nerviosas (Kreiss y Lucki tomado en Lucki 1994, Sharp y cols. 1990). Se propone que esta disminución de la síntesis de serotonina conlleva a una regulación-reactivación del receptor 5-HT<sub>1A</sub>.

Además, algunos más han propuesto que la disfunción del sistema serotoninérgico por ejemplo, puede resultar en cambios en el sistema noradrenérgico (Eison 1990).

### **Relación entre los niveles hormonales ováricos, la ansiedad y la depresión**

En la actualidad es bien sabido que la ausencia o presencia de hormonas esteroides tales como el estrógeno y la progesterona pueden influir en la regulación del estado de ánimo. Así, se ha relacionado un aumento de los niveles de ansiedad y depresión con los descensos súbitos de los niveles de las hormonas ováricas, tales como el estradiol y la progesterona. Estos cambios se han observado en periodos específicos de la vida de la mujer como el premenstrual, el postparto y el perimenopaúsico (Halbreich, 1988; Pearlstein, 1995 y 1997; Stuart, 1998; Schmidt y Rubinow, 1997). Asimismo, se ha visto que la administración de estrógenos como monoterapia durante la postmenopausia mejora los síntomas de ansiedad y depresión y no otros síntomas afectivos como: somatización, síndromes obsesivo-compulsivos y sensibilidad interpersonal, los cuales sí mejoran con la asociación de estrógenos y progestágenos (Paoletti y cols. 2001).

Paralelamente, en estudios básicos, se han observado cambios en los niveles de ansiedad a lo largo del ciclo estral de la rata. Por ejemplo, se ha reportado una disminución en los niveles de ansiedad en la etapa del proestro tardío, la cual se caracteriza por presentar niveles elevados de estradiol y progesterona (Fernández-Guasti y Picazo, 1995). Además, la administración exógena de progesterona o sus metabolitos ejerce el mismo efecto ansiolítico, probablemente, por estimulación del receptor GABA<sub>A</sub> en forma similar a las acciones de los barbituratos y benzodiazepinas sobre este receptor (Majewska y cols. 1986; Fernández Guasti y cols. 1992; Picazo y Fernández-Guasti, 1995). Por otra parte, se han reportado cambios asociados al

ciclo estral de la rata. Por ejemplo, se ha visto que durante la fase proestro, estro (Contreras y cols. 1998), y durante la gestación (Molina-Hernández y Tellez-Alcantará, 2000), las cuales son condiciones fisiológicas hormonales caracterizadas por tener altos niveles hormonales gonadales predominantemente de progestágenos, los animales presentan en el modelo de nado forzado, conductas similares a las que presentan después de la administración de antidepresivos. Esto sugiere que las hormonas gonadales endógenas podrían estar ejerciendo un efecto tipo antidepresivos. Aunado a esto, se ha demostrado que la administración tanto de progestinas como de estrógenos ejercen un efecto semejante a los antidepresivos en diversos modelos animales de depresión (Khisti 2000, Martínez-Mota, 1998; Molina, 2000; Estrada-Camarena y cols. 2003; Martínez-Mota y cols. 1999).

En forma interesante, algunos reportes señalan que la ausencia de hormonas ováricas modifica los estados afectivos. Esto podría estar relacionado con los cambios en los sistemas de neurotransmisión que son blanco de las hormonas gonadales y que han sido implicados en la modulación de la ansiedad y la depresión. Por ejemplo, se encontró que la ovariectomía disminuye el efecto ansiolítico del neuroesteroide allopregnanolona (Laconi y cols. 2001) y promueve un aumento o disminución de los sitios a benzodiazepinas dependiendo del área cerebral estudiada (Boseé y DiPaolo, 1996). Heikkinen T y cols. (2002) reportaron que los roedores ovariectomizados a los 3 meses de edad evaluados a los 7 meses de edad después de la cirugía, tienen una disminución hipocampal de NE (noradrenalina), COMT (catecolamino-transferasa), 5-HIAA (5-hidroxi-indol-acético) y DOPAC (ácido-dihidroxi-fenil-acético) comparados con animales falsamente operados. Asimismo, se ha reportado que la administración de estrógenos incrementa la actividad monoaminérgica, la capacidad de respuesta serotoninérgica

postsináptica, el número de receptores serotoninérgicos y el transporte y recaptura del neurotransmisor (Osterlund 1998, Bethea 2002). Por otra parte, los estrógenos también incrementan la síntesis de serotonina a través de la activación de la triptofano hidroxilasa (Bethea 2000). Se han encontrado que la administración de estrógenos produce mayores niveles séricos del metabolito 5-HIAA así como una regulación a la alza de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y una disminución de la actividad de la enzima MAO (Halbreich y cols. 1995, McEwen BS y cols. 1997, Chakravorty SG y Halbreich 1997) lo cual es similar a lo que ocurre con la administración de fármacos antidepresivos. En general estos resultados han permitido proponer que las hormonas gonadales ejercen un papel modulador sobre los estados afectivos probablemente a través de la regulación de los sistemas de neurotransmisión.

Finalmente, se ha descrito que, tanto los estrógenos como la progesterona modifican el efecto de fármacos psicotrópicos. Por ejemplo, Fernández-Guasti y cols. reportaron que la progesterona facilita el efecto ansiolítico de las benzodiazepinas y de la desimipramina (Fernandez-Guasti y Picazo, 1997; Martínez Mota y cols. 2000). En el caso de los estrógenos se ha reportado que pueden facilitar el efecto ansiolítico o antidepresivo de la desimipramina así como el efecto antidepresivo de la fluoxetina (Martinez-Mota y cols. 2000; Estrada-Camarena y cols. 2003). En contraste, en ratas hembras lactantes (caracterizadas por presentar niveles bajos de hormonas ováricas), el efecto ansiolítico de 8-OH-DPAT se ve abolido (Fernandez-Guasti y cols. 1997). Estas evidencias sugieren que las hormonas ováricas, además de modular los estados afectivos también influyen sobre la respuesta a fármacos antidepresivos y ansiolíticos. Es importante señalar que aún se desconoce que pasa con la respuesta a los fármacos ante una ausencia crónica y permanente de hormonas ováricas.

## **Modelos animales de postmenopausia.**

Para el estudio de la postmenopausia experimental se han propuesto algunos modelos animales a los cuales se les han caracterizado parámetros bioquímicos, fisiológicos que varían de manera similar a como varían en las mujeres postmenopáusicas, lo cual nos hace posible equiparlos con este estado fisiológico.

Existen básicamente dos maneras de obtener un modelo animal de postmenopausia. La primera forma es permitiendo que el animal alcance la edad fisiológica en la cual pierde la capacidad reproductiva y presenta alteraciones bioquímicas y fisiológicas equiparables a las que presentan las mujeres en estado postmenopáusico. La segunda forma (la cual también puede ocurrir en la mujer), es el resultado que se obtiene después de quitar la fuente primaria de hormonas gonadales, es decir, a través de la extracción quirúrgica de los ovarios. En este caso se ha evaluado que después de un tiempo (aproximadamente 3 meses), ocurren cambios similares a los que se observan en mujeres postmenopáusicas.

El modelo animal de postmenopausia por ovariectomía, se propuso inicialmente para el estudio de la osteoporosis. Este modelo consiste en realizar la extracción quirúrgica de los ovarios en ratas de 3 meses de edad (peso aprox de 180-200 gr.) y mantenerlas durante 12 semanas. Al término de este tiempo se le considera al animal postmenopáusico debido a que presenta las siguientes características:

1. En este modelo animal vivo ocurre una pérdida ósea espontánea o inducida por la deficiencia hormonal ovárica de características similares de la pérdida ósea encontradas en mujeres postmenopáusicas en uno o más aspectos.

2. Además, también se ha encontrado otras alteraciones fisiopatológicas similares a las que ocurren en las mujeres postmenopaúsicas como, las modificaciones tanto de hormonas ováricas como hipotalámicas (Wise 1997),
3. Se ha demostrado que similarmente a lo que ocurre en las mujeres, la terapia estrogénica produce una disminución de la pérdida ósea. (Wise 1997, Merchenthaler 1998)
4. Se ha observado que las hormonas gonadales por sí mismos pueden producir algunas modificaciones en algunos sistemas de neurotransmisión (Mc. Ewen 1999).

De acuerdo a esto y a los criterios de Wessler para la elección de un modelo animal, se eligió el modelo de postmenopausia por ovariectomía pues a pesar de que este modelo no es la replica exacta de la condición humana, sí puede ser útil por los aspectos estudiados. Es importante señalar que aún no se ha caracterizado si este modelo también puede promover cambios conductuales similares a los que ocurren en mujeres postmenopaúsicas que se puedan detectar en modelos conductuales.

## **JUSTIFICACIÓN**

Actualmente se ha propuesto la ovariectomía a largo plazo como un modelo para inducir cambios fisiológicos en la rata, semejantes a algunas alteraciones endócrinas y metabólicas observadas en mujeres postmenopáusicas tales como: pérdida de calcio y alteración en la regulación térmica entre otras. Por lo anterior, sería importante determinar si este modelo también es capaz de inducir alguna alteración en el estado de ánimo asociadas a la etapa postmenopáusica.

## **HIPÓTESIS**

Si el estradiol y la progesterona participan en la modulación de la ansiedad y depresión experimental, y a su vez modifican la respuesta a fármacos ansiolíticos y antidepresivos, es posible que la ausencia o disminución de estas hormonas mediante la ovariectomía a largo plazo modifique los niveles de ansiedad y depresión experimental, así como la respuesta a fármacos ansiolíticos y antidepresivos.



## **OBJETIVOS GENERALES**

Objetivo 1.- Valorar si el modelo de postmenopausia inducido por ovariectomía promueve cambios en los niveles de la depresión y la ansiedad experimental.

Objetivo 2.- Valorar el efecto de algunos agentes ansiolíticos y algunos agentes antidepresivos en el modelo de postmenopausia.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1.1.-Determinar los niveles de la ansiedad y la depresión experimental a las 3, 6 y 12 semanas postovariectomía (POVX)

2.1.- Evaluar el efecto ansiolítico del diacepam y del 8-OH-DPATa las 3 y 12 semanas POVX.

2.2.- Evaluar el efecto antidepresivo de la desimipramina y de la fluoxetina a las 3 y 12 semanas POVX.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Animales**

Se usaron ratas hembra de la cepa Wistar (200 gr.) ovariectomizadas, expuestas a condiciones de ciclo invertido de luz oscuridad (9 hrs- 21 hrs) y con libre acceso a alimento y agua. Las ratas fueron manipuladas de acuerdo a los lineamientos de la norma oficial mexicana. Así, los animales fueron operados mediante incisión quirúrgica ventral y bajo anestesia con éter. Se extrajeron los ovarios, se realizó hemostasia y afrontamiento de la pared abdominal y se permitió la recuperación quirúrgica inmediata a los efectos anestésicos. Finalmente se les regreso a su ambiente en el cuarto oscuro. Después de 3, 6 o 12 semanas de la cirugía, se les sometió a las pruebas conductuales de ansiedad y de depresión.

### **Fármacos**

Los fármacos fluoxetina, desmipramina, 8-OH-DPAT (8-hidroxi-2-di-n-propilamino-tetralina) se disolvieron en solución salina, el diacepam fue disuelto en propilenglicol al 40%) Todos los fármacos se inyectaron intraperitonealmente (IP) en un volumen equivalente a 2 ml/kg.

Los antidepresivos fluoxetina, desmipramina, se administraron de manera subcrónica 24, 5, 1 hr. antes de la prueba (Kitada 1981, López-Rubalcava y Lucki 2000), mientras que, los ansiolíticos 8-OH-DPAT y diacepam se administraron en forma aguda con una latencia de 20 min. antes de la prueba. (Fernández Guasti 1997).

En el caso de los fármacos fluoxetina y desimipramina se ensayaron dosis de 2.5, 5.0 y 10 mg/kg de peso. Para 8-OH-DPAT se ensayaron dosis de 0.125, 0.25 y 0.5 mg/kg y para diazepam las dosis de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg.

### **Modelos conductuales utilizados**

#### **Modelo de ansiedad**

Modelo de la conducta defensiva de enterramiento.- Este modelo fue propuesto por Treit y cols. como modelo de ansiedad que actualmente se utiliza para la valoración de fármacos ansiolíticos. En el modelo se explora la conducta innata de los roedores para ocultar un estímulo aversivo en el medio natural. En este caso el estímulo está representado por un pequeño electrodo a través del cual se le administra un choque eléctrico. Este modelo consiste en colocar al animal en una jaula transparente de dimensiones similares a las de la jaula hogar donde ha permanecido aislado por lo menos durante 3 días previos al experimento. El piso de esta caja se encuentra cubierto por una capa de aserrín fino de 2 cm. de espesor aproximadamente. A través de una de las paredes de la caja emerge un electrodo a 2 cm. por encima del aserrín, el cual produce una descarga de 0.3 mA. Al introducir un animal a esta caja, éste inicia la típica conducta exploratoria hasta que eventualmente toca el electrodo y recibe una descarga eléctrica, momentos después despliega la conducta de enterramiento defensivo. Esta conducta consiste en movimientos de las patas anteriores y posteriores con el fin de cubrir con el aserrín el estímulo que el animal ha reconocido como aversivo que en este caso, es el electrodo. Durante los 10 minutos que dura la prueba se contabiliza el tiempo que tarda el animal en iniciar la

conducta defensiva de enterramiento después de recibir el primer choque, denominado latencia de enterramiento y refleja la reactividad del animal (Rodríguez Manzo y cols. 2000). Otro parámetro a evaluar es el tiempo acumulativo que el animal se pasa enterrando y se correlaciona directamente a los niveles de ansiedad.

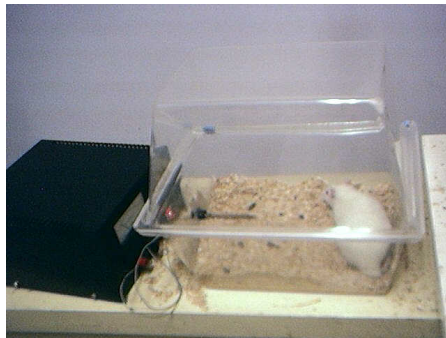


Fig 8.- Modelo de la conducta defensiva de enterramiento.

## **Modelo de depresión**

Modelo del nado forzado.- Es el modelo de desesperanza aprendida más usado de los modelos de simulación de depresión, sobre todo para la evaluación de fármacos antidepresivos. El modelo del nado forzado esta basado en la observación de que cuando la rata es forzada a nadar en una situación donde no tiene escape (estrés incontrolable), después de un periodo inicial de actividad vigorosa, muestra sólo los movimientos necesarios para mantener la cabeza por fuera del agua. Este último periodo se denomina conducta de inmovilidad y se interpreta como un estado de desesperanza análogo al que se observa en un individuo deprimido (Porsolt 1977, Willner 1992).

El procedimiento propuesto originalmente por Porsolt (1977) se realiza en dos fases. En la primera se coloca una rata dentro de un cilindro transparente de 46 cm. de alto por 20 cm de diámetro, conteniendo agua a temperatura ambiente a 30 cm. de altura, evitando que la rata toque el fondo del cilindro. Después de 15 min. (primera fase o preprueba) la rata se seca y se coloca en su caja a temperatura ambiente. Veinticuatro horas más tarde, el animal es expuesto a las mismas condiciones durante 5 min. (segunda fase o prueba). Esta sesión es video-grabada para posteriormente ser revisada por un observador que desconoce los tratamientos aplicados. La revisión consiste en cuantificar, en intervalos de 5 segundos la conducta que pudiera tener el animal. Cada intervalo se considera una cuenta, teniendo en total 60 cuentas en 5 min. divididas entre los 3 tipos de conducta:

1. inmovilidad: una rata se le considera inmóvil cuando realiza el mínimo esfuerzo posible para mantener la cabeza a flote.
2. nado: se considera cuando el animal realiza movimientos suaves que le permiten desplazarse dentro del cilindro.
3. Escalamiento: se considera esta conducta cuando se observa a la rata hacer movimientos vigorosos, tratando de trepar a través de las paredes del cilindro.

Estas dos últimas conductas activas se interpretan como los intentos que realiza el animal por resolver la situación sugiriendo un estado de motivación, en tanto que la inmovilidad se considera una conducta pasiva y sugiere un estado de desesperanza experimental. En general los antidepresivos disminuyen la conducta de inmovilidad a costa del incremento de las conductas activas (Borsini 1995, Porsotl 1977, Detke y cols. 1995).



Fig 9.- Modelo de desesperanza.

### **Prueba de actividad espontánea**

Esta prueba se realiza con el fin de descartar cualquier alteración motora que pueda afectar el desempeño de los animales en el modelo de ansiedad y de nado forzado. Se coloca a la rata durante 5 minutos dentro de una caja de acrílico de 10 x 20 x 40 cm la cual contiene sensores que permiten contabilizar automáticamente la actividad general del animal (OPTO VARIMEX). La prueba se realiza después de la prueba de la conducta defensiva de enterramiento y antes de la prueba de nado forzado con el fin de que no interfieran las pruebas entre sí, alterando los parámetros a cuantificar (Fig 10).





Fig 10.- Prueba de actividad espontánea.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó con ANOVA unifactorial seguido de la prueba de Tukey para comparar los niveles de ansiedad y depresión experimental a diferentes tiempos POVX y con ANOVA de 2 factores seguido de la misma prueba post-hoc para comparar los tratamientos y los tiempos después de la cirugía. Para este último análisis el factor A fue el tiempo transcurrido después de la ovariectomía y el factor B fue el tratamiento farmacológico.

### **Descripción general**

Para la prueba de la conducta defensiva de enterramiento, los animales fueron ovariectomizados y se les permitió su recuperación durante un tiempo de 3, 6 o 12 semanas en las condiciones mencionadas anteriormente. Tres días previos al día de la prueba se aislaron en cajas de acrílico de tamaño similar a

la caja experimental. El día programado para la experimentación los animales se pesaron y colocaron en el cuarto oscuro con luz roja tenue para adaptación y minimizar los mínimos estímulos ansiogénicos (se evitaron todo estímulo ambiental que pudiera condicionar ansiedad en los animales). Los animales se inyectaron intraperitonealmente 20 minutos antes de exponerlos a la prueba de ansiedad con solución salina -grupo control- o con alguna de las dosis señaladas del fármaco ansiolítico. Inmediatamente después de la prueba de ansiedad (10 min.) los animales se sometieron a la prueba de actividad locomotriz. La prueba de ansiedad se realizó entre las 12 y 17 hrs. y fue filmada para su posterior cuantificación.

Para la prueba de nado forzado, los animales se organizaron de la misma manera que los anteriores y el día programado se sometieron a la preprueba (15 minutos de nado, entre las 12 y 15 hrs) después de la cual se secaron y mantuvieron a temperatura ambiente. Se les administró IP la dosis programada del fármaco antidepresivo o sol salina. 24, 5 y 1 hr. antes de la prueba (la cual se realizó 24 hrs después de la preprueba) y antes de someterlas a la prueba (5 min. de nado en las mismas condiciones del día previo) se le sometió a la medición de actividad locomotriz. En este caso también se filmó la prueba nado forzado para su posterior registro (Fig. 9).

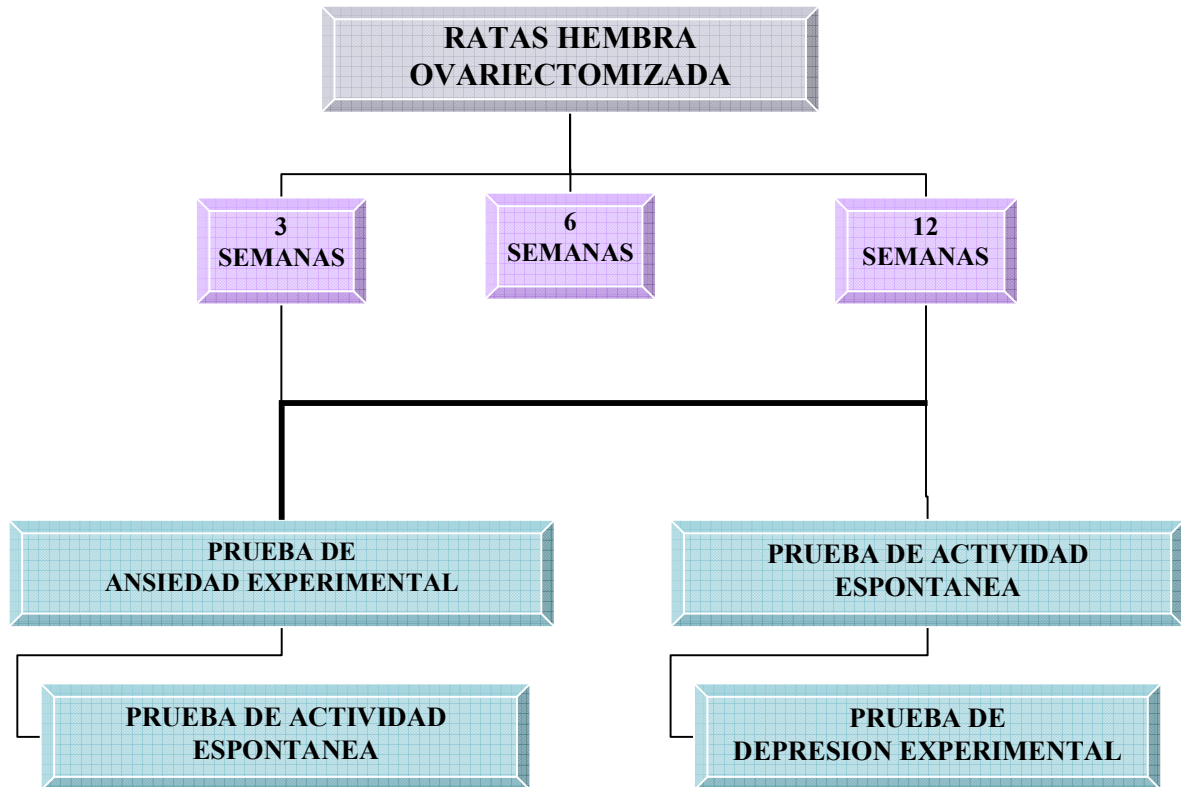
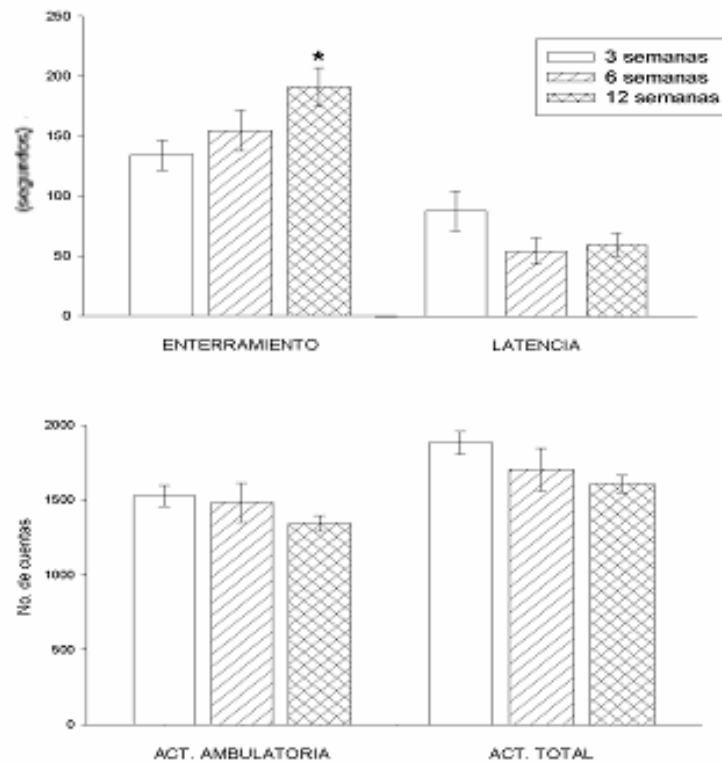


Fig 11.- Diagrama de flujo de la metodología.

## RESULTADOS

### Niveles de ansiedad y de depresión.

La Figura 12 ilustra los niveles de ansiedad experimental en los grupos de 3, 6 y 12 semanas POVX. Se observa un incremento en la conducta de enterramiento (panel superior izquierda) relacionado directamente al tiempo POVX, siendo significativo a las 12 semanas (ANOVA de 1 vía  $F_{(2:40)} = 3.59$ ;  $p=0.031$ ). No se encontraron diferencias en el tiempo de latencia (panel superior derecha  $F_{(2:40)} = 1.933$ ;  $p=0.155$ ) ni en la prueba de actividad locomotriz (panel inferior) Actividad ambulatoria: ANOVA de una vía  $F_{(2:40)} = 1.35$ ;  $p=0.27$  ; Actividad total: ANOVA de una vía  $F_{(2:40)} = 2.39$ ;  $p = 0.104$ ).



**FIG 12.** Ansiedad basal (panel superior) y actividad espontánea (panel inferior) de ratas ovariectomizadas 3, 6 y 12 semanas antes. \*  $p < 0.05$  contra el grupo de 3 semanas.

La figura 13 muestra los resultados de la prueba de nado forzado en los grupos de 3, 6 y 12 semanas POVX. En ninguno de los casos se modificó el número de cuentas de la inmovilidad (panel superior derecho, ANOVA de 1 vía  $F_{(2:24)} = 1.195$   $p=0.320$ ) ni el nado (panel superior medio, ANOVA de 1 vía  $F_{(2:24)} = 1.195$   $p = 0.320$ ). Sólo las cuentas del escalamiento panel superior derecho disminuyeron en el grupo de 12 semanas (ANOVA de 1 vía  $F = 4.358$   $p= 0.024$ ). Tampoco hay diferencias en la actividad locomotriz (panel inferior ANOVA de una vía: Actividad ambulatoria  $F_{(2:24)} = 1.40$ ;  $p=0.26$  . Actividad total  $F_{(2:24)} = 1.42$ ;  $p=0.26$ ).

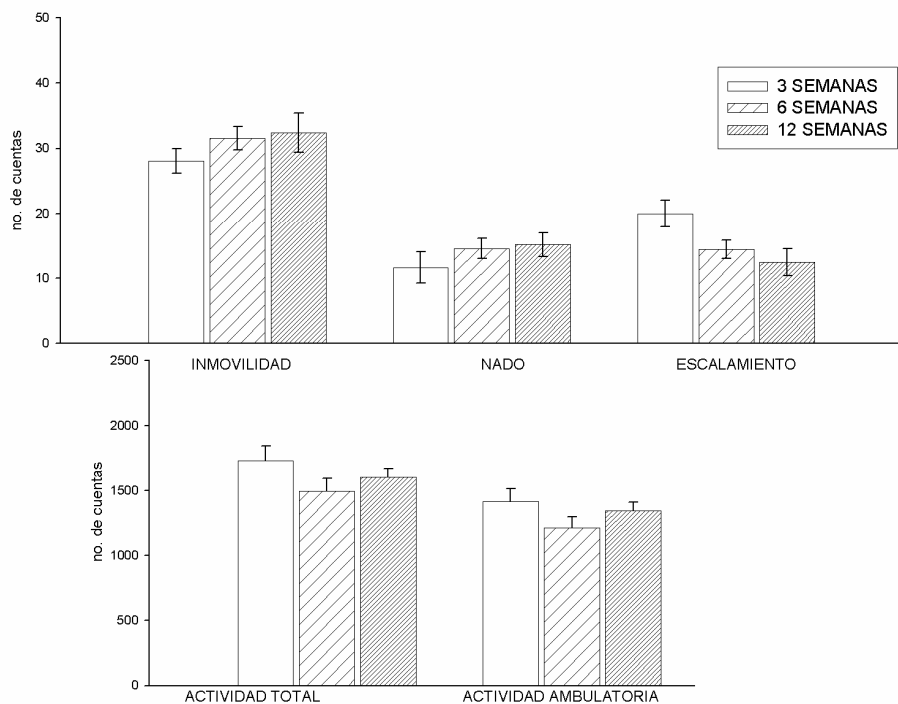


Fig. 13. Resultados del nivel de desesperanza de ratas ovariectomizadas 3, 6 y 12 semanas antes (panel superior) y actividad espontánea de las mismas (panel inferior). \*  $p < 0.05$ .

## **Efectos farmacológicos de algunos ansiolíticos y antidepresivos.**

En la figura 14 se muestra el efecto ansiolítico del 8-OH-DPAT sobre la conducta de enterramiento defensivo (panel superior) y la latencia de enterramiento (panel inferior). Es evidente que los animales de 12 semanas POVX son más sensibles al efecto ansiolítico de 8-OH-DPAT ya que en este grupo el tiempo de enterramiento disminuye a partir de la dosis intermedia (ANOVA de dos vías: factor a -tiempo postquirúrgico-;  $F_{(1:85)}=1.373$ ,  $p=0.245$  factor b-dosis del fármaco-;  $F_{(1:85)}=14.258$ ,  $p<0.01$ ) y la interacción axb;  $F_{(1:85)}=2.817$ ,  $p=0.044$  muestra que la respuesta al efecto ansiolítico depende del tiempo POVX. La latencia sólo se incrementó con la dosis más alta en el grupo de 12 semanas (ANOVA de dos vías: factor a=  $F_{(1:85)}=0.944$ ,  $p=0.334$ ; factor b =  $F_{(1:85)}=7.508$ ,  $p<0.001$ ), sin que esta diferencia se deba al tiempo POVX (interacción axb:  $F_{(1:85)}=1.719$ ,  $p=0.169$ ).

La figura 16 ilustra el efecto del 8-OH-DPAT sobre la actividad locomotriz. Así, el 8-OH-DPAT disminuye tanto la actividad ambulatoria (panel inferior, ANOVA de 2 vías factor a:  $F=16.626$ ,  $p<0.001$  factor b:  $F=2.420$ ,  $p=0.072$ ; interacción axb:  $F=0.936$ ,  $p=0.427$ ) como la actividad total (panel superior, ANOVA de 2 vías factor a:  $F=16.146$ ,  $p<0.001$  factor b:  $F=2.368$ ,  $p=0.076$ ; interacción axb:  $F=0.684$ ,  $p=0.564$ ) sin que esto sea debido al tiempo POVX.

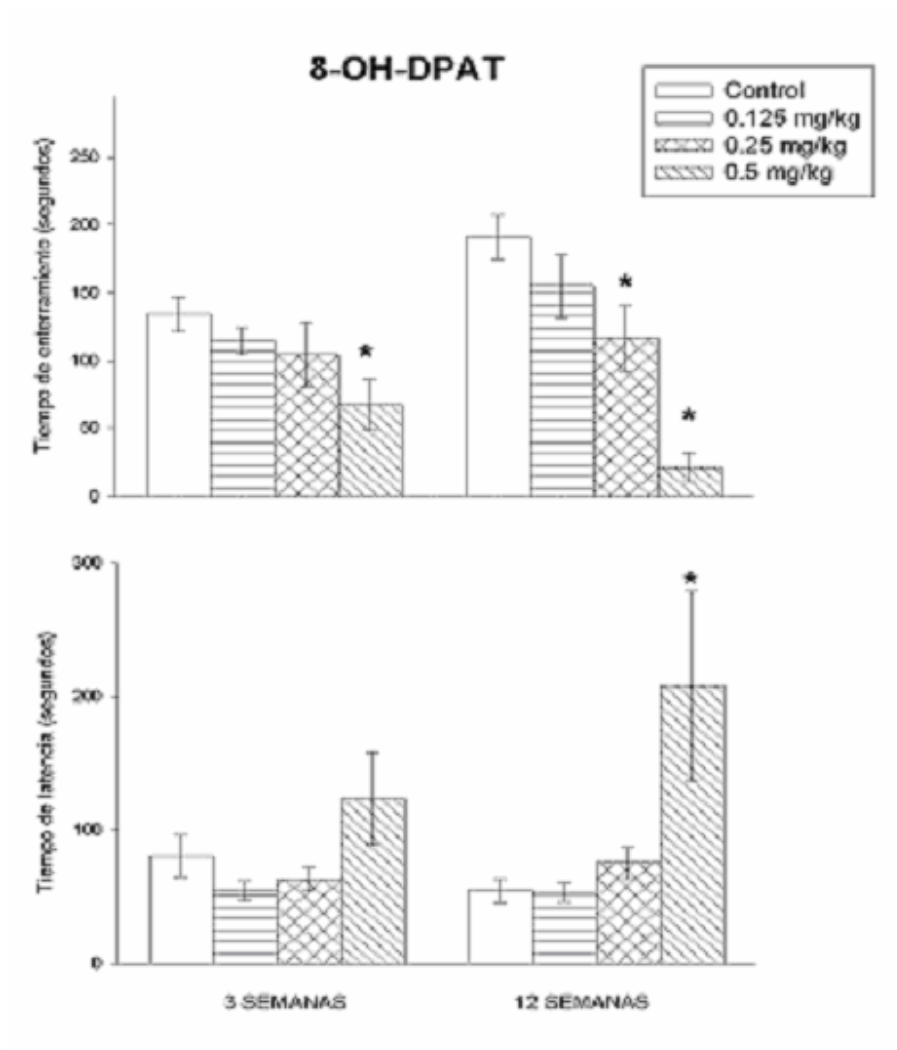


Fig 14.- Efecto ansiolítico del 8-OH-DPAT sobre la conducta de enterramiento defensivo y la latencia de enterramiento.



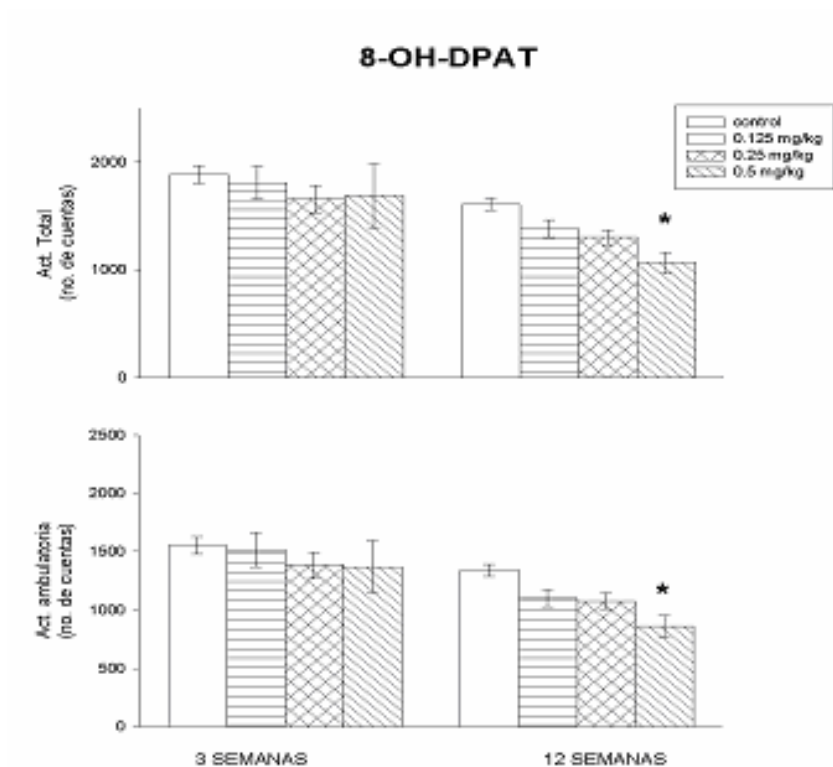


Fig 15.- Efecto del 8-OH-DPAT sobre la actividad espontánea de ratas ovariectomizadas 3 o 12 semanas antes.

La figura 16 representa el efecto ansiolítico del diazepam en la conducta de enterramiento defensivo (panel superior) y la latencia de enterramiento (panel inferior). En ambos grupos El diazepam produce efectos ansiolíticos a partir de la dosis de 0.5 mg/kg. (ANOVA de dos vías factor a:  $F_{(1:79)}=0.277$ ,  $p=0.6$ ; factor b:  $F_{(3:79)} =69.637$ ,  $p <0.001$ , interacción axb:  $F_{(3:79)}= 3.104$  ,  $p =0.031$ ) sin que esto sea dependiente del tiempo POVX.

El ANOVA de 2 vías muestra que el efecto farmacológico del diazepam sobre la latencia de enterramiento. Así, en el grupo de 3 semanas, este parámetro se incrementa con las dosis de 1 y 2 mg/kg, mientras que en el grupo de 12 semanas el aumento

sólo se observa con la dosis alta (ANOVA de dos vías, factor a:  $F_{(1:79)} = 1.510$ ,  $p=0.223$ ; factor b:  $F_{(3:79)} = 23.027$   $p<0.001$  interacción axb:  $F_{(3:79)}=4.443$ ,  $p= 0.006$ ).

La figura 17 ilustra el efecto del diacepam sobre la actividad locomotriz. El diacepam disminuyó la actividad ambulatoria (panel inferior ANOVA de dos vías. Factor a:  $F_{(1:79)}= 20.55$ ;  $p<0.001$ ; factor b:  $F_{(3:79)}=20.961$ ;  $p<0.001$  interacción axb:  $F_{(3:79)}=2.42$ ;  $p= 0.156$ ) y la actividad total (panel superior. Factor a:  $F_{(1:79)}=24.080$ ,  $p<0.001$ ; factor b:  $F_{(3:79)}=24.066$   $p<0.001$  interacción axb:  $F_{(3:79)}=2.189$ ,  $p= 0.096$ ) en ambos grupos a partir de la dosis de 1.0 mg/kg. sin que este efecto sea debido al tiempo POVX.

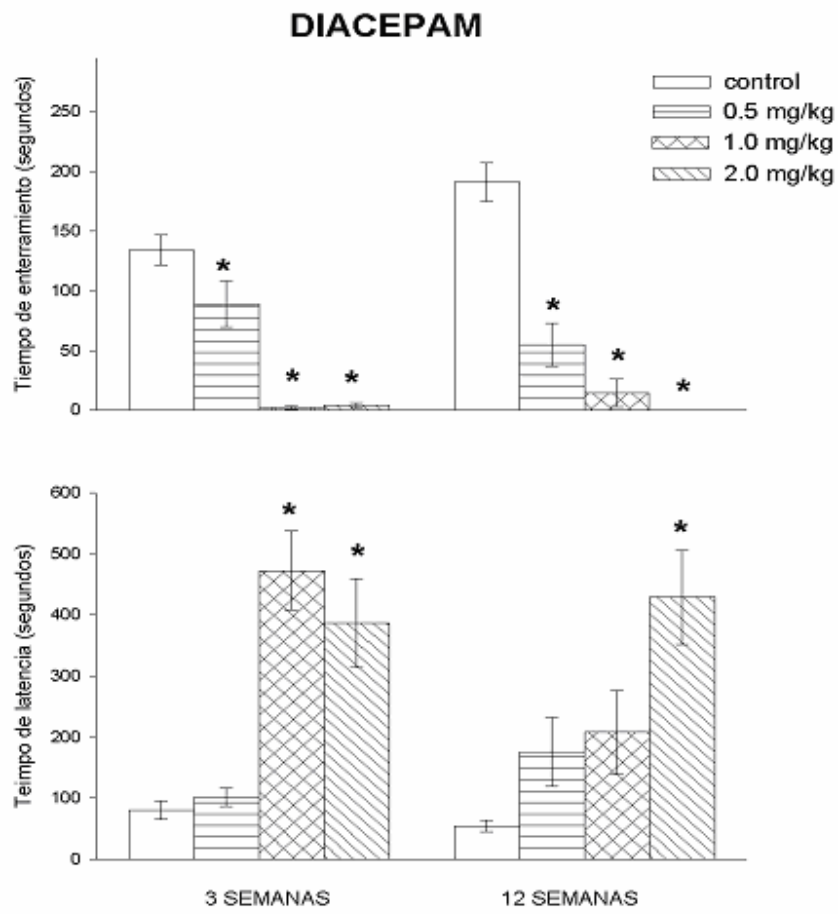


Fig 16 Efecto ansiolítico del diazepam sobre la conducta de enterramiento defensivo y sobre la latencia de enterramiento de ratas previamente ovariectomizadas.

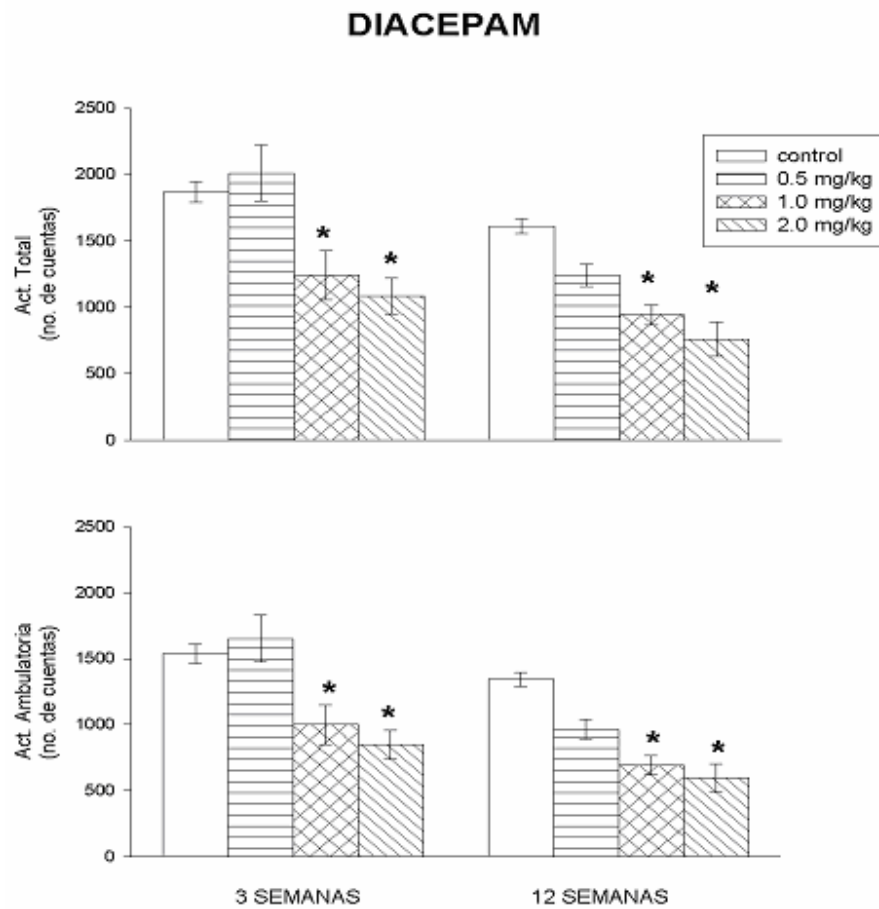


Fig 17. El efecto del diazepam sobre la actividad espontánea de ratas ovariectomizadas 3 o 12 semanas antes.

La figura 18 ilustra el efecto de la fluoxetina sobre las conductas de inmovilidad (panel superior), nado (panel medio) y escalamiento (panel inferior) en la prueba de nado forzado. Los animales de 12 semanas postovariectomizados fueron más sensibles al efecto antidepressivo de la fluoxetina ya que, la conducta de inmovilidad disminuyó en el grupo de 12 semanas postovariectomía a partir de la dosis de 2.5 mg/kg. no así en el grupo de 3 semanas postquirúrgico en el cual la conducta de inmovilidad sólo disminuye con la dosis alta. (ANOVA de 2 vías:

factor a  $F_{(1:70)} = 1.057$ ,  $p=0.307$ ; factor b  $F_{(3:70)} = 14.46$ ,  $p<0.001$   
interacción axb:  $F = 1.192$ ,  $p = 0.319$ ). Este efecto fue dependiente del tiempo POVX. Aunado a esto, en el grupo de 3 semanas, la conducta de nado se incremento con las dosis de 5.0 y 10.0 mg/kg; mientras que, en el grupo de 12 semanas, lo hizo con las dosis de 2.5 y 10 mg/kg. (ANOVA de 2 vías: factor a:  $F_{(1:70)} = 0.855$ ,  $p=0.358$ ; factor b:  $F_{(3:70)} = 17.92$ ,  $p<0.001$   
interacción axb:  $F = 0.994$ ,  $p = 0.401$ ). La conducta de escalamiento no se modificó con ninguna de las dosis de fluoxetina en ambos grupos (ANOVA de 2 vías: factor a:  $F_{(1:70)} = 3.78$ ,  $p=0.56$ ; factor b:  $F_{(3:70)} = 0.717$ ,  $p=0.545$  interacción axb:  $F = 2.52$ ,  $p = 0.065$ ).

La fig. 19 muestra el efecto de la fluoxetina sobre la actividad locomotriz. La fluoxetina no modificó ni la actividad ambulatoria (panel inferior, ANOVA de 2 vías: factor a:  $F_{(1:70)} = 0.52$ ,  $p=0.47$ ; factor b:  $F_{(3:70)} = 2.61$ ,  $p=0.058$ . Interacción axb:  $F = 1.16$ ,  $p = 0.32$ ) ni la actividad total (panel inferior, ANOVA de 2 vías: factor a:  $F_{(1:70)} = 1.58$ ,  $p=0.213$ ; factor b:  $F_{(3:70)} = 3.129$ ,  $p=0.031$  interacción axb:  $F = 0.921$ ,  $p = 0.435$ ) en ambos grupos.

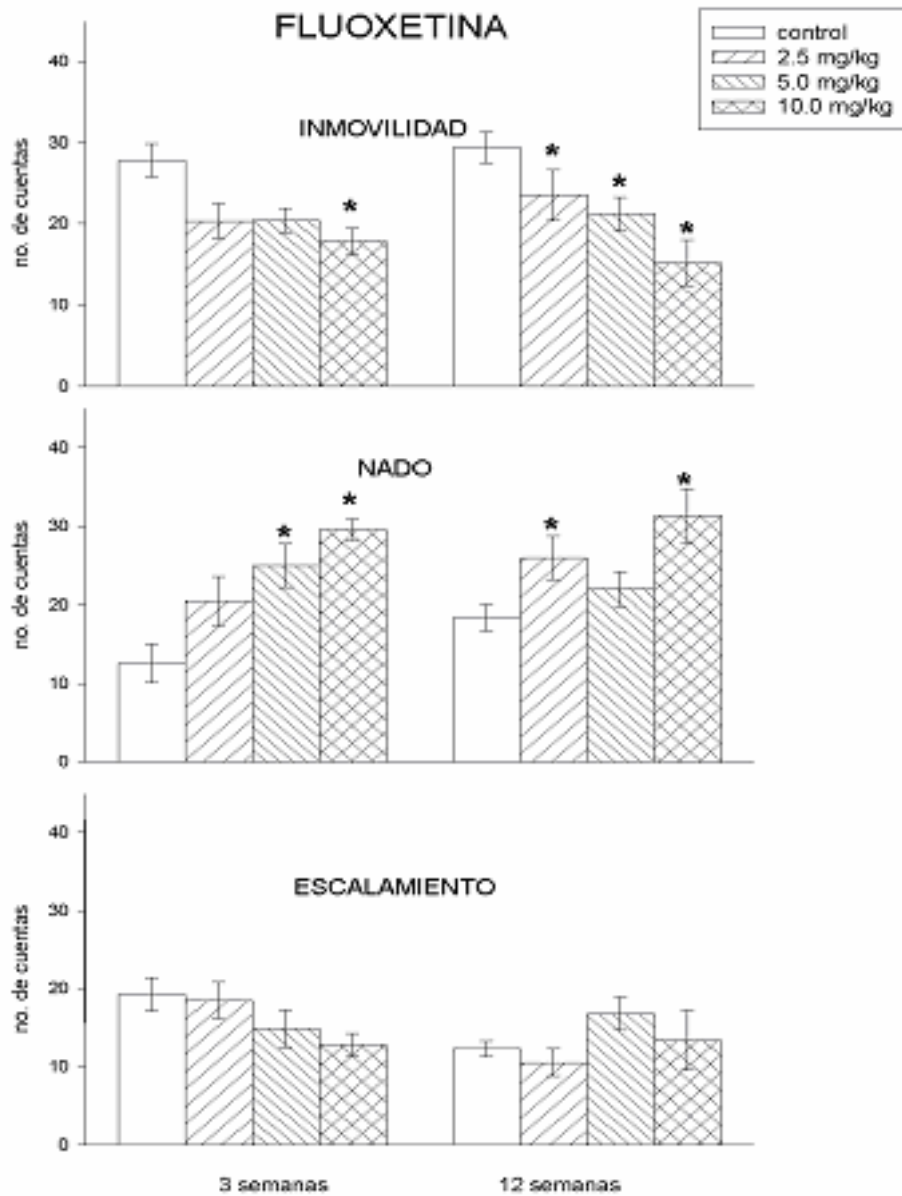


Fig 18. Efecto de la fluoxetina sobre las conductas de inmovilidad, nado y escalamiento en la prueba de nado forzado en ratas \* $p < 0.05$  en comparación con el grupo control tratado con solución salina.

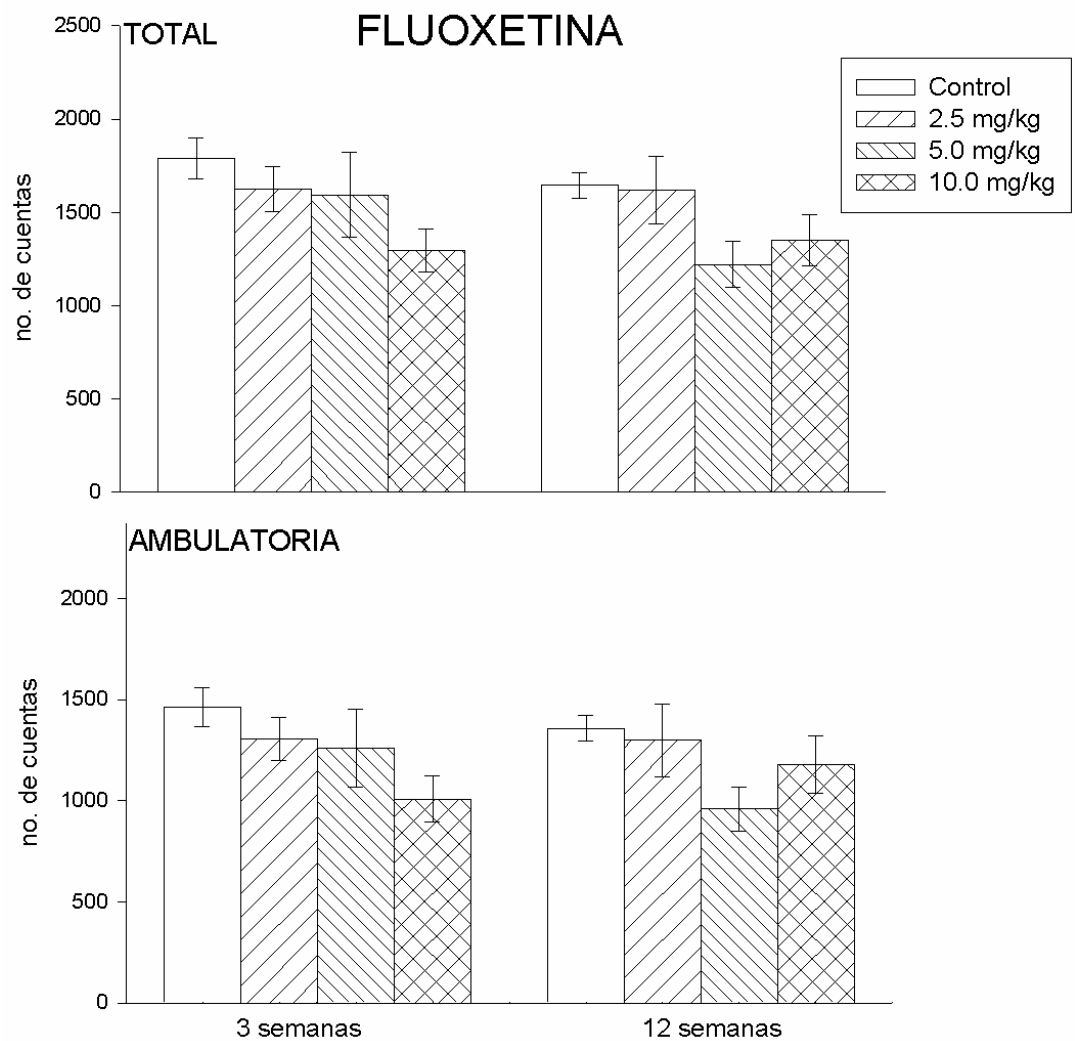


Fig 19. Efecto de la fluoxetina sobre la actividad espontánea en ratas ovariectomizadas 3 o 12 semanas antes

En la fig. 20 muestra el efecto de la desimipramina sobre la conducta de inmovilidad (panel superior) de nado (panel medio) y de escalamiento (panel inferior). La desimipramina produce, en el grupo de 3 semanas, una disminución de la conducta de inmovilidad desde la dosis de 2.5 mg/kg; mientras que, en el

grupo de 12 semanas, lo hace a partir de la dosis de 5.0 mg/kg. (ANOVA de 2 vías: factor a:  $F_{(1:88)} = 0.367$ ,  $p = 0.557$ ; factor b:  $F_{(3:88)} = 12.26$ ,  $p < 0.001$ ; interacción axb:  $F = 0.714$ ,  $p = 0.546$ ). En el grupo de 3 semanas la conducta de nado disminuyó significativamente con la dosis de 5.0 y 10 mg/kg (ANOVA de 2 vías, factor a:  $F_{(1:88)} = 12.031$ ,  $p < 0.001$ ; factor b:  $F_{(3:88)} = 2.727$ ,  $p = 0.049$ ; interacción axb:  $F = 2.464$ ,  $p = 0.068$ ). En el panel inferior se observa que la desimipramina indujo, en el grupo de 3 semanas, un incremento en la conducta de escalamiento a partir de la dosis de 2.5 mg/kg, mientras que, en el grupo de 12 semanas, sólo lo hizo a las dosis de 2.5 y 10 mg/kg. También se puede apreciar que la desimipramina, con las dosis de 2.5 y 5.0 mg/kg produce menor conducta de escalamiento en el grupo de 12 semanas con respecto del grupo de 3 semanas (ANOVA de 2 vías: factor a:  $F_{(1:88)} = 18.40$ ,  $p < 0.001$ ; factor b:  $F_{(3:88)} = 29.92$ ,  $p < 0.001$ ; interacción axb:  $F = 3.33$ ,  $p = 0.023$ ).

La fig 21 muestra el efecto de desimipramina sobre la actividad locomotriz. La desimipramina produce una disminución de la actividad ambulatoria (panel inferior, ANOVA de 2 vías, factor a:  $F_{(1:88)} = 2.42$ ,  $p = 0.123$ ; factor b:  $F_{(3:88)} = 15.035$ ,  $p < 0.001$ ; interacción axb:  $F = 0.545$ ,  $p = 0.653$ ) y de la actividad total (panel superior, ANOVA de 2 vías, factor a:  $F = 3.893$ ,  $p = 0.052$ ; factor b:  $F = 15.994$ ,  $p < 0.001$ ; interacción  $F = 0.848$ ,  $p = 0.471$ ) en ambos grupos a partir de la dosis de 5.0 mg/kg. Así mismo, aunque la actividad total no se modifica en ambos grupos con respecto a su control, en el grupo de 12 semanas es menor con la dosis de 2.5 mg/kg con respecto al grupo de 3 semanas.



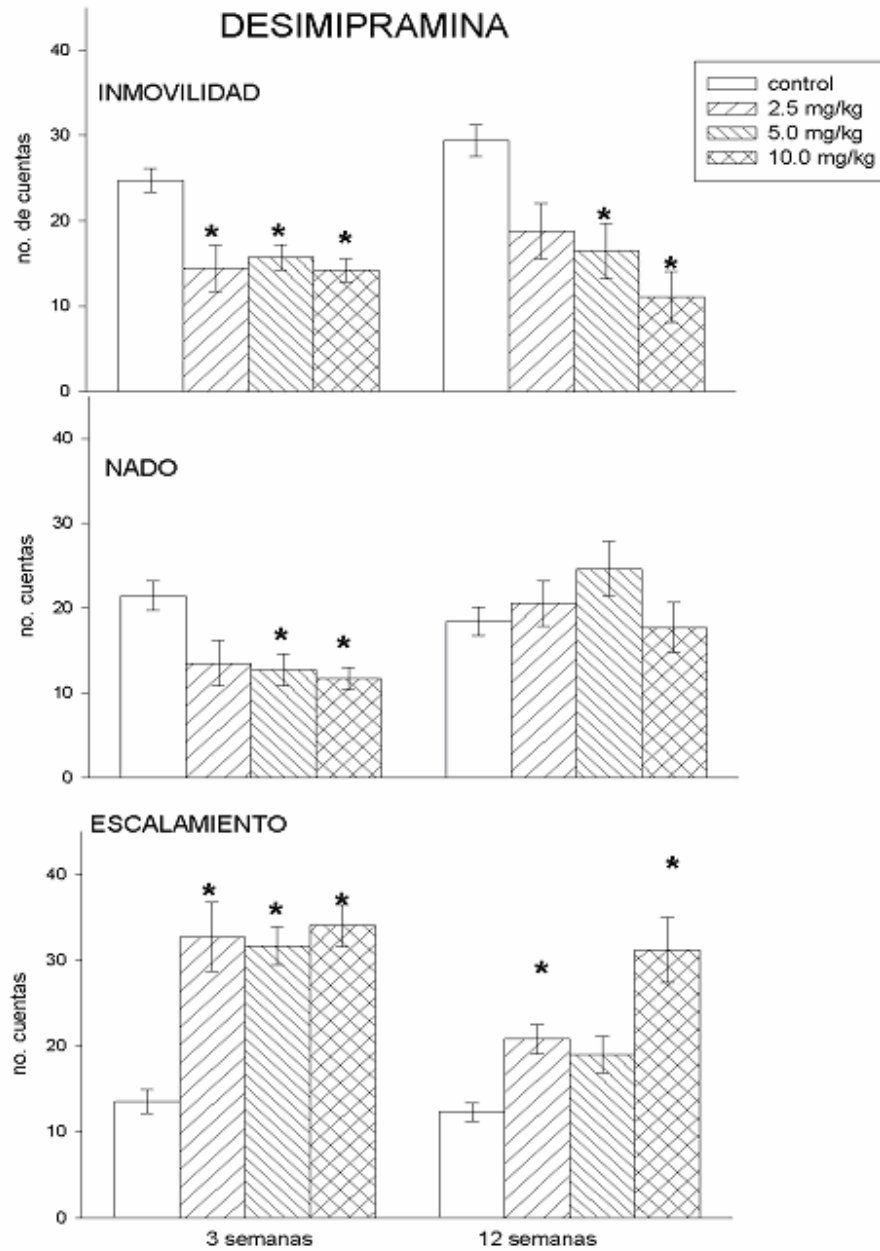


Fig. 20. Efecto de la desimipramina sobre la conducta de inmovilidad, de nado y de escalamiento en la prueba de nado forzado en ratas en comparación con el grupo control tratado con solución salina

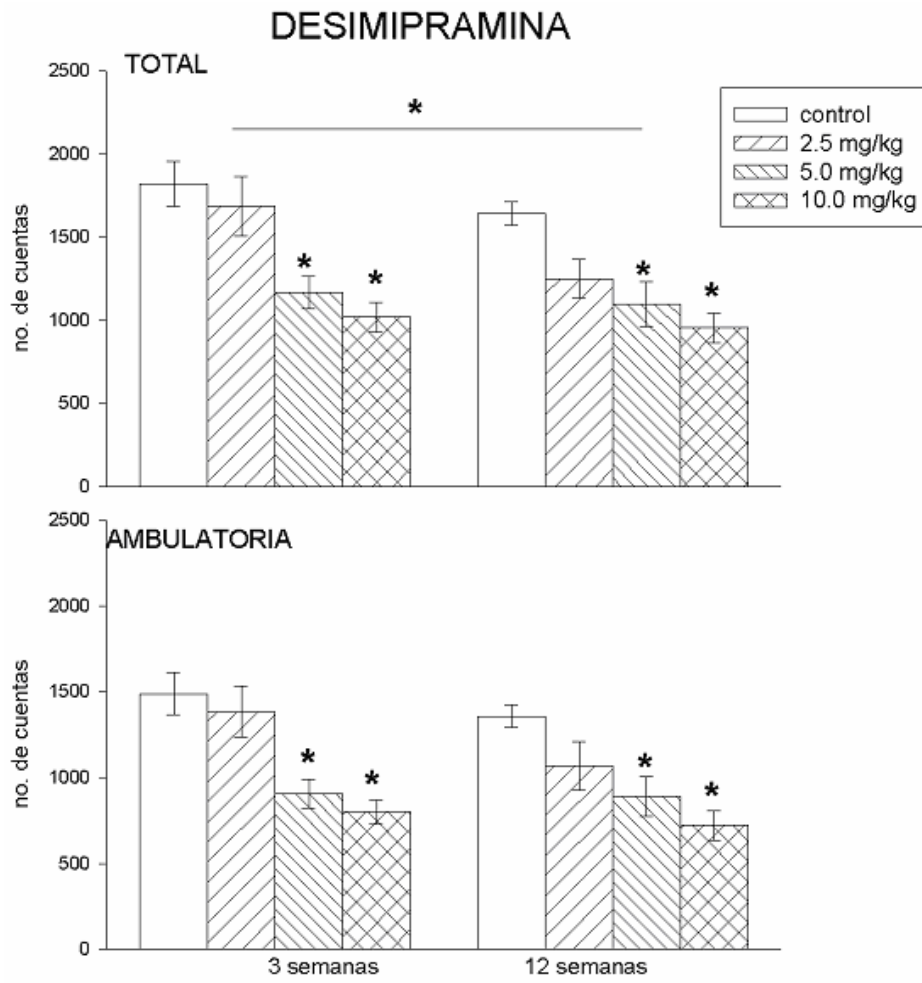


Fig 21. Efecto de la desimipramina sobre la actividad espontánea total y ambulatoria.

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

Los resultados del presente trabajo se pueden resumir como sigue:

- La ovariectomía a largo plazo –modelo de postmenopausia- induce un incremento en el tiempo empleado en la conducta defensiva de enterramiento.
- Las ratas de 12 semanas POVX fueron más sensibles al efecto ansiolítico del 8-OH-DPAT, mientras que el efecto ansiolítico del diazepam no se modificó por efecto del tiempo POVX.
- La conducta de inmovilidad observada en la prueba de nado forzado no se modificó por efecto del tiempo POVX.
- Para el caso de los fármacos antidepresivos, el tiempo POVX disminuyó la sensibilidad al efecto antidepresivo de la desimipramina y contrariamente a esto, la sensibilidad al efecto antidepresivo de la fluoxetina aumentó en relación directa al tiempo POVX.

### **Ansiedad y hormonas**

Existe evidencia de una regulación de los niveles de ansiedad experimental a través de los niveles esteroidales (Fernández-Guasti y Picazo 1992; Picazo y Fernández-Guasti 1993; Laconi y cols. 2001; Marcondes y cols. 2001). Asimismo, se ha observado en algunos modelos animales, que los niveles bajos de hormonas ováricas, específicamente progesterona, corresponden con los niveles más altos niveles de ansiedad.

(Reddy 2003; Gómez y cols. 2002). En el presente estudio todos los grupos experimentales comparten el mismo estado endócrino, es decir una mínima concentración de hormonas esteroidales sólo mantenidas por las glándulas adrenales. (Wise y Ratner, 1980; Jussofie y cols. 1995), lo cual hace poco probable que sólo la condición hormonal sea la responsable de la diferencia de ansiedad encontrada entre las ratas de 3 y 12 semanas postovariectomía.

Algunas evidencias muestran que en algunas áreas cerebrales, la ausencia crónica de hormonas esteroidales como resultado de la extracción de los ovarios, produce una reducción de la actividad GABAérgica (Bosse y DiPaolo 1996; Tominaga y cols. 2001). Otros autores encontraron que después de 14 días de la extracción gonadal, se producía una regulación a la baja de los receptores GABA<sub>A</sub> en las regiones cerebrales sensibles a estrógenos (Schumacher y cols. 1989). Similarmente, se ha observado una disminución en el sitio asociado a benzodiazepinas dentro del receptor GABA<sub>A</sub> en algunas regiones cerebrales tales como el globo pallidum, después de 3 meses de la eliminación de los ovarios (Bosse y DiPaolo, 1996). En el mismo sentido, se ha visto que la actividad convulsiva del inmunosupresor ciclosporina A se exacerba 28 días después de la extracción ovárica, un fenómeno probablemente mediado por la inhibición GABAérgica hipocámpal (Tominaga y cols. 2001).

Estas evidencias sugieren que la actividad GABAérgica pudiera estar disminuida como consecuencia de la ovariectomía. Algunos autores reportan que el tratamiento con estrógenos incrementa la unión de muscimol marcado a nivel de la amígdala

y el hipocampo de ratas ovariectomizadas, lo cual apoyaría esta hipótesis. En el mismo sentido, ratones sin receptor FSH (que por lo tanto sufren deficiencia estrogénica crónica) muestran cambios degenerativos en el hipocampo (Danilovich y cols. 2004), una deficiencia que se acompaña por niveles altos de ansiedad experimental en la prueba de campo abierto (Danilovich y cols. 2003).

Así, todo esto apoya la idea de que el desbalance hormonal a largo plazo de las hormonas producida por la remoción de los ovarios induce una disminución de la neurotransmisión GABAérgica hipocampal a niveles más bajos que los requeridos para mantener los niveles regulares de ansiedad en las ratas. Esta puede ser la razón de que el grupo de 12 semanas presente conductas ansiogénicas cuando se le compara con el grupo de 3 semanas POVX.

La observación de que el diazepam no induce un aumento de la latencia de enterramiento en el grupo de 3 semanas a la dosis de 1 mg/kg pudiera estar reflejando esta supuesta disminución del tono GABAérgico ya que se ha visto que dosis mayores a 1 mg/kg de diazepam aumentan la latencia (Fernández-Guasti y Picazo 1990).

Si la ausencia crónica de hormonas esteroides, como resultado de una ovariectomía, realmente representa un modelo animal de envejecimiento, entonces la ansiedad asociada con las mujeres menopáusicas pudiera explicarse también como reflejo de un desbalance en la actividad GABAérgica. Sin embargo, esta propuesta tiene que ser tomada con reserva ya que los efectos conductuales del diazepam en ambos grupos de ratas estudiados fueron muy similares, es decir; una disminución en la

conducta defensiva de enterramiento después de la inyección de dosis crecientes de diacepam, a expensas de un déficit motriz.

Los efectos ansiolíticos de 8-OHDPAT a las dosis más altas en el grupo de 3 semanas, fue similar a lo observado en estudios previos usando ratas de dos semanas POVX. Igual a los presentes resultados, este efecto no fue enmascarado por alteraciones motoras (Fernandez-Guasti y cols. 1998). Es importante mencionar que cuando la droga induce un efecto ansiolítico o ansiogénico junto con una disminución de las habilidades motoras de las ratas, tal efecto no puede ser interpretado como respuesta selectiva de la droga. Así, el probable efecto ansiolítico del 8-OHDPAT observado tras la administración de dosis mayores a 0.25 mg/kg en el grupo de 12 semanas, debe ser discutido sólo como alteración en la coordinación motora debido al hecho de que a esas dosis este agente induce una clara disminución de la actividad espontánea.

Los resultados relacionados con la influencia de las hormonas ováricas sobre la funcionalidad de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> son confusos, por ejemplo; se han reportado regulaciones a la baja (Flugge y cols. 1999) o a la alta (Raap y cols. 2002) de este receptor en zonas neurales relacionadas con la conducta sexual, así como ningún cambio en la unión ligando receptor en zonas límbicas, después de 2 semanas de haber eliminado los ovarios (Landry y DiPaolo 2003; Flugge y cols. 1999). En el mismo sentido, otros autores han reportado que el tratamiento crónico con estrógenos inhibe la conducta de alimentación, una función regulada por los receptores 5HT<sub>1A</sub> (Maswood y Uphouse 1997) y reduce el efecto inhibitorio del 8-OH-DPAT sobre la respuesta sexual femenina de las ratas (Uphouse y cols. 1993).

A partir de estas evidencias y otros estudios, se ha propuesto que el acoplamiento al receptor 5HT<sub>1A</sub> varía como consecuencia del tratamiento estrogénico (Lakoski 1989, Salamanca y Uphouse 1992, Jackson y Uphouse 1996). En apoyo a esta idea, se ha reportado que el tratamiento con estradiol por dos semanas reduce la unión al receptor 5-HT<sub>1A</sub> en varias regiones postsinápticas 5HT<sub>1A</sub> tales como la amígdala, hipocampo y corteza motora (Osterlund y cols. 2000).

De estos hallazgos se podría sugerir que la ausencia de estrógenos a largo plazo como consecuencia de una ovariectomía, induce una regulación a la alza del receptor 5-HT<sub>1A</sub> en algunas áreas cerebrales, incluyendo la corteza motora, en tal forma que esta regulación induce una mayor respuesta a los efectos motores del 8-OH-DPAT en el grupo de 12 semanas. Esta propuesta está de acuerdo con un estudio reciente en el cual se muestra que la remoción de los ovarios y el reemplazo estrogénico no afectan a corto plazo ni la unión del receptor hacia sus ligandos, ni altera los niveles del RNAm que sintetiza al receptor 5-HT<sub>1A</sub> en hipocampo y núcleos del rafé dorsal (Landry y Di Paolo 2003).

En suma, estos hallazgos no explican la influencia a largo plazo de la ovariectomía sobre el efecto de algunos agentes ansiolíticos y sobre el surgimiento de conductas ansiogénicas en las ratas. Sin embargo, el presente estudio proporciona información que pudiera ayudar a entender las alteraciones del ánimo asociadas a la menopausia en humanos.

## **Depresión y hormonas**

Existen reportes clínicos divergentes sobre la relación entre los niveles hormonales gonadales y los estados afectivos del tipo depresivo. Algunos estudios relacionan a la postmenopausia con una mayor incidencia de estados depresivos, mientras que otros no encontraron relación entre los dos eventos (Utian 1994, Bryant y Dere 1998). En nuestro trabajo no encontramos diferencias en los niveles de la depresión experimental que se pudieran justificar por una ausencia crónica de hormonas sexuales. Sin embargo, observamos algunas diferencias en las conductas activas registradas en el modelo del nado forzado, que podrían sugerir que algunos de los sistemas de neurotransmisión pudieran estar alterados. Hay evidencias que sugieren una alteración de los dos sistemas biológicos más importantes relacionados con la depresión (sistema serotoninérgico y catecolaminérgico) tras la eliminación de la fuente endógena de hormonas esteroides, por ejemplo; se presentan algunos cambios en ciertos sistemas de neurotransmisión, detectables desde los primeros 7 días después de la extracción de los ovarios; también se puede observar simultáneamente una disminución del transportador de serotonina, un efecto que puede revertirse mediante la administración de estrógenos (Krajnak y cols. 2003). Además, se sabe que 3 semanas después de la ovariectomía, se observa una disminución de la sensibilidad de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Rapp y cols. 2000), produciendo a la vez una disminución de la actividad del sistema serotoninérgico. Por otra parte, se sabe que la ausencia de estrógenos produce una disminución de la síntesis



de catecolaminas a través de una disminución de la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa (Bosse 1997). Dados estos hallazgos, que pudieran estar relacionados con cambios en el estado de ánimo que no se observaron en la prueba conductual utilizada en este trabajo, se sugiere que el modelo del nado forzado tiene algunas limitantes que no permiten observar cambios pequeños en los diferentes grupos experimentales. Por ejemplo, la manera de determinar los niveles de inmovilidad en intervalos de tiempo de 5 segundos durante toda la prueba, quizás proporcione un rango de medición que no alcanza a detectar las diferencias en los niveles de desesperanza de los grupos experimentales. Por otra parte y tomando en cuenta que se presentan cambios en los sistemas de neurotransmisores desde los 7 días POVX, se podría proponer que los cambios más evidentes en los niveles de desesperanza pudieran observarse desde ese periodo, siendo menos detectables en tiempos posteriores. En relación a este punto, existe evidencia de una disminución de la actividad del sistema noradrenérgico en función de la ausencia de hormonas gonadales (Schultz 1991) que podría explicar la disminución de la conducta de escalamiento encontrada en el grupo de 12 semanas con respecto al grupo de 3 semanas postovariectomía.

Los resultados del presente estudio muestran que la sensibilidad al efecto antidepresivo de la fluoxetina en el modelo de nado forzado es mayor en el grupo de 12 semanas postovariectomía comparado con el grupo de 3 semanas POVX, dado que observamos una disminución de la conducta de inmovilidad en el modelo del nado forzado a partir de la dosis de 2.5 mg/kg. Existen reportes que indican que los niveles hormonales gonadales séricos modifican la sensibilidad del

receptor 5 HT1A. Raap y cols. (2000) señalan que la ovariectomía induce una regulación a la alza del receptor 5 HT1A, lo cual es revertido por la administración de benzoato de estradiol. Aunado a esto, se ha descrito en un modelo animal para depresión, usando ratas Flinders, un incremento del RNA mensajero del mismo receptor en algunas áreas cerebrales como la amígdala; mostrando a la vez estas ratas, una mayor conducta de inmovilidad. Esta evidencia permitiría sugerir que a las 3 semanas POVX se presenta un incremento en la sensibilidad de los receptores 5-HT1A. La evidencia señala que la disminución de los niveles hormonales gonadales, produce a la vez una reducción de la actividad serotoninérgica debida a la disminución tanto del transportador a 5-HT como de la síntesis del neurotransmisor (Osterlund y Hurd 1998). También se ha demostrado que la ausencia de estrógenos produce una mayor sensibilidad del receptor 5-HT1A (Raap y cols. 2000). Dados los presentes hallazgos, es posible suponer que la ausencia de estrógenos durante largo plazo provoque una disminución de la disponibilidad del neurotransmisor y favorezca una mayor sensibilidad de los receptores., en este caso de 5-HT1A. Esto último podría explicar que el sistema respondiera aún a pequeñas dosis a los fármacos, quizás incrementando la disponibilidad de serotonina en la sinapsis.

Por otro lado, existen datos de la literatura que indican que la ovariectomía a corto plazo produce una disminución del transportador a serotonina y se reestablece con la administración de E2 (Kritzer 2003.). Aunque no existen datos que indiquen que esta disminución se mantenga durante un tiempo prolongado, al disminuir el transportador de serotonina, exista menor disponibilidad del neurotransmisor por lo cual disminuya el efecto

del fármaco a las tres semanas por lo cual es necesario a las tres semanas mayor dosis del fármaco para observar el mismo efecto antidepresivo. En este caso podríamos suponer que a las 12 semanas a pesar de existir poco neurotransmisor, existe una mayor sensibilidad de los receptores lo cual favorecería una recuperación y regulación del sistema serotoninérgico hacia el equilibrio, respondiendo a menores dosis de fármaco. En todo sentido, aún es incierto el mecanismo por el cual suceden los cambios observados en este modelo experimental lo cual daría pie a realizar más experimentos para tratar de explorar el mecanismo por el cual se producen estos cambios.

En el caso de la utilización de la desimipramina encontramos una menor sensibilidad al efecto antidepresivo en el grupo de animales de 12 semanas POVX, ya que el efecto de este agente fue observado a la dosis baja sólo en el grupo de 3 semanas. Como fue evidente, este efecto estuvo asociado a una disminución de la conducta de inmovilidad asociada con un incremento del escalamiento en el modelo del nado forzado. Sin embargo, fue claro que a dosis mayores la ambulación fue afectada en ambos grupos.

Se ha descrito que los estrógenos pueden promover la síntesis de noradrenalina, sobre todo a nivel del *locus ceruleus*, incrementando la actividad de las enzimas responsables de su síntesis (Serova y cols. 2002, Pau y cols. 2000). Por el contrario, la ausencia de estrógenos parece disminuir la síntesis del transportador a dopamina así como el número de receptores dopaminérgicos D1 y D2 (Bossé y Di Paolo 1996). Además este último efecto se puede reestablecer mediante la administración de estrógenos. Thanky y cols. en 2002, observaron que la

gonadectomía en hembras produce una disminución de la transcripción génica de la enzima tirosina hidroxilasa, lo cual puede ser revertido por la administración de estrógenos. También Serova y cols. en 2002 reportaron que los estrógenos pueden estimular la expresión génica de la enzima dopamina beta hidroxilasa y de tirosina hidroxilasa en el *locus ceruleus* lo cual promueve la síntesis de catecolaminas y estimula a este sistema. Por otro lado, Heikkinen y cols. en 2002 encontraron en ratones de 7 días post ovariectomía una disminución en el área hipocampal de noradrenalina, 5-HIAA y DOPAC. Toda esta evidencia sugiere que la falta de estrógenos produce una disminución en la actividad de las enzimas sintetizadoras de catecolaminas, lo cual a largo plazo podría condicionar una disminución de la actividad del sistema catecolaminérgico, en específico a través de la disminución del neurotransmisor. Estas evidencias apoyarían la idea de que el grupo de ratas de 12 semanas POVX en comparación con el grupo de 3 semanas, necesitaría dosis mayores de desipramina para desplegar conductas antidepresivas.

Por otra parte se sabe que la dosis efectiva para desipramina es de 5 mg/kg para ratas hembra; a partir de la cual respondió el grupo de 12 semanas. Estos hallazgos permiten suponer que realmente hubo un incremento de la sensibilidad al fármaco antidepresivo en el grupo de 3 semanas ya que estos animales respondieron desde la dosis de 2.5 mg/kg. No obstante, es necesario realizar más experimentos para dilucidar si esta sensibilización es dependiente del tiempo post-ovariectomía o si sólo se presenta a las 3 semanas como un evento único.

En conclusión, los presentes resultados ponen en evidencia que la ausencia crónica de hormonas esteroides debida a la eliminación quirúrgica de los ovarios, induce cambios conductuales que pudieron ser detectados con los modelos experimentales utilizados. Además, se pudo observar que la eliminación de hormonas sexuales, a largo plazo, produce modificaciones en la respuesta a fármacos conocidos por sus efectos ansiolíticos y antidepresivos. A pesar de que estos resultados están de acuerdo con estudios previos que reportan la influencia hormonal sobre los sistemas de neurotransmisión involucrados en la regulación del ánimo y la ansiedad, el mecanismo por el cual se dan estos cambios conductuales, así como el cambio en la respuesta a los fármacos utilizados es aún incierto. Sin embargo, el presente estudio suministra nueva información sobre los posibles eventos asociados a la ausencia hormonal relacionada con la postmenopausia humana.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adams, K., Dunlap S, Sueta C., Clarke S., Patterson J., Blauwet M., Jensen L., Tomasko L. and Koch G. Relation between gender, etiology, and survival in patients with symptomatic heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 28: 1781-1788. 1996.
- Anger Meyer MC, Kuhn L. Gender differences in age at onset of schizophrenia. An overview. *European Arch. Psychiatry Neurol. Sci.* 237: 351-364. 1988.
- Angrist B, Thompson H, Shopsin B. Clinical studies with dopamine-receptor stimulants. *Psychopharmacologia* 44: 273-280. 1975.
- Armstrong RW, Steinbok P, Cochrane DD. Intrathecally administered baclofen for treatment of children with spasticity of cerebral origin. *J. Neurosurg.* 87: 409-414. 1997.
- Banerjee SP, Kung LS, Riggi SJ. Development of beta-adrenergic receptor subsensitivity by antidepressants. *Nature* 4: 455-456. 1977.
- Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* 38:1083-1152. 1999.
- Bethea CL, Mirkes SJ, Shively CA, Adams MR. Steroid regulation of tryptophan hydroxylase protein in the dorsal raphe of macaques. *Biol Psychiatry.* 15;47: 562-76 2000.
- Bethea CL, Lu NZ, Gundlah C, Streicher JM. Diverse actions of ovarian steroids in the serotonin neural system. *Front Neuroendocrinol.* 23:41-100 2002

- Blier P, Chaput Y, de Montigny C. Long-term 5-HT reuptake blockade, but not monoamine oxidase inhibition, decreases the function of terminal 5-HT autoreceptors: an electrophysiological study in the rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 337: 246-254. 1988
- Blier P, de Montigny C Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci*. 15: 220-226. 1994,
- Blier P, de Montigny C, Chaput Y Electrophysiological assessment of the effects of antidepressant treatments on the efficacy of 5-HT neurotransmission. *Clin Neuropharmacol* 11 Suppl 2 S1-10. 1988
- Borsini F Role of the serotonergic system in the forced swimming test. *Neurosci. Behav. Rev.* 19: 377-395. 1995.
- Bosse R, Di Paolo T Dopamine and GABAA receptor imbalance after ovariectomy in rats: model of menopause. *J Psychiatry Neurosci*. 20: 364-371. 1995.
- Bosse R, Di Paolo T. The modulation of brain dopamine and GABAA receptors by estradiol: a clue for CNS changes occurring at menopause. *Cell Mol Neurobiol* .16:199-212. 1996.
- Bosse R, DiPaolo T. The modulation of brain dopamine and GABAA receptors by estradiol: a clue for CNS changes occurring at menopause. *Cell Mol Neurobiol*. 16: 199-212. 1996.
- Bosse R, Rivest R, Di Paolo T Ovariectomy and estradiol treatment affect the dopamine transporter and its gene

expression in the rat brain. *Brain Res Mol Brain Res.* 46: 343-6. 1997.

- Chakravorty SG, Halbreich U. The influence of estrogen on monoamine oxidase activity. *Psychopharmacol. Bull.* 33: 229-233. 1997.
- Christiansen C. Osteoporosis: diagnosis and management today and tomorrow. *Bone.* 17: 513S-516S. 1995.
- Contreras CM, Martinez-Mota L, Saavedra M Desipramine restricts estral cycle oscillations in swimming. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 22: 1121-1128. 1998,
- Coppen A The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry.* 113: 1237-1264. 1967.
- Danilovich N, Harada N, Sairam MR, Maysinger D. Age-related neurodegenerative changes in the central nervous system of estrogen-deficient follitropin receptor knockout mice. *Exp Neurol.* 183: 559-572. 2003.
- Danilovich N, Maysinger D, Sairam MR. Perspectives on reproductive senescence and biological aging: studies in genetically altered follitropin receptor knockout [FORKO] mice. *Exp Gerontol.* 39: 1669-1678. 2004.
- Danilovich N, Sairam MR, Maysinger D. The menopausal mouse: a new neural paradigm of a distressing human condition. *Neuroreport.* 14: 1617-1622. 2003.
- De Lorey TM, Olsen RW Gamma-aminobutyric acidA receptor structure and function. *J. Biol. Chem.* 25: 16747-16750. 1992,



- De Montigny C, Blier P Effects of antidepressant treatments on 5-HT neurotransmission: electrophysiological and clinical studies. *Adv Biochem Psychopharmacol* 39: 223-239. 1984.
- De Montigny C, Blier P, Chaput Y Electrophysiologically-identified serotonin receptors in the rat CNS. Effect of antidepressant treatment. *Neuropharmacology*. 23: 1511-1520. 1984.
- Detke MJ, Lucki I Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behav Brain Res*, 73: 43-46. 1996.
- Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*. 121: 66-72. 1995.
- Duman RS. Novel therapeutic approaches beyond the serotonin receptor. *Biol Psychiatry*. 44: 324-335. 1998.
- Eison MS. Serotonin: a common neurobiologic substrate in anxiety and depression. *J. Clin. Psychopharmacol*. 10: 26S-30S. 1990.
- Epperson CN. Postpartum major depression: detection and treatment. *Am Fam Physician*. 15: 2247-2254, 2259-2260. 1999.
- Estrada-Camarena E, Fernandez-Guasti A, Lopez-Rubalcava C Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*. 28:830-838. 2003.

- Fernandez-Guasti A, Picazo O Anxiolytic actions of diazepam, but not of buspirone, are influenced by gender and the endocrine stage. *Behav. Brain. Res.* 88: 213-218. 1997.
- Fernandez-Guasti A, Picazo O Changes in burying behavior during the estrous cycle: effect of estrogen and progesterone. *Psychoneuroendocrinology.* 17: 681-689. 1992,
- Fernandez-Guasti A, Picazo O, Ferreira A. Blockade of the anxiolytic action of 8-OH-DPAT in lactating rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 59:45-50. 1998.
- Fernandez-Guasti A, Picazo O. The actions of diazepam and serotonergic anxiolytics vary according to the gender and the estrous cycle phase. *Pharmacol Biochem Behav.* 37: 77-81. 1990.
- Fernandez-Guasti A, Rodriguez-Manzo G 8-OH-DPAT and male rat sexual behavior: partial blockade by noradrenergic lesion and sexual exhaustion. *Pharmacol Biochem Beba.* 56: 111-116. 1997.
- Fernandez-Guasti A. Picazo O. Flumazenil blocks the anxiolytic action of allopregnanolone. *Eur. J. Pharmacol.* 281, 113-115. 1995.
- Fillit H Estrogens in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease in postmenopausal women. *Ann NY Acad Sci.* 743:233-239. 1994.
- Flugge G, Pfender D, Rudolph S, Jarry H, Fuchs E. 5HT1A-receptor binding in the brain of cyclic and ovariectomized female rats. *J Neuroendocrinol.* 11: 243-249. 1999.
- Fuller RW. Basic advances in serotonin pharmacology. *J Clin Psychiatry.* 53: 36-45. 1992.

- Galeeva A, Tuohimaa P Analysis of mouse plus-maze behavior modulated by ovarian steroids. *Behav Brain Res.* 119:41-47. 2001.
- Galeeva Alu, Tuohimaa P, Shaliapina VG [Role of sex steroids in development of anxiety in female mice] *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*, 87: 1680-1687. 2001.
- Gomez C, Saldivar-Gonzalez A, Delgado G, Rodriguez R. Rapid anxiolytic activity of progesterone and pregnanolone in male rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 72: 543-550. 2002.
- Halbreich U, Alt IH, Paul L Premenstrual changes. Impaired hormonal homeostasis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 17: 173-194. 1988,
- Halbreich U, Kahn LS. Are women with premenstrual dysphoric disorder prone to osteoporosis? *Psychosom Med.* 63:361-364. 2001
- Halbreich U, Kahn LS. Role of estrogen in the aetiology and treatment of mood disorders. *CNS Drugs.* 15:797-817. 2001.
- Halbreich U, Kahn LS. Role of estrogen in the aetiology and treatment of mood disorders. *CNS Drugs.*15: 797-817. 2001.
- Halbreich U, Rojansky N, Palter S, Tworek H, Hissin P, Wang K. Estrogen augments serotonergic activity in postmenopausal women. *Biol Psychiatry.* 37:434-441. 1995.
- Halbreich U. Premenstrual dysphoric disorders, anxiety, and depressions: vulnerability traits or comorbidity. *Arch Gen Psychiatry.* 52: 606. 1995.

- Hamon M, Lanfumey L, el Mestikawy S. The main features of central 5-HT<sub>1</sub> receptors. *Neuropsychopharmacology* 3: 349-360. 1990.
- Heikkinen T, Puolivali J, Liu L, Rissanen A, Tanila H. Effects of ovariectomy and estrogen treatment on learning and hippocampal neurotransmitters in mice. *Horm Behav.* 41: 22-32. 2002.
- Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PPA. VII. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacol Rev* 46: 157-204. 1994.
- Huber TJ, Rollnik J, Wilhelms J, von zur Muhlen A, Emrich HM, Schneider U. Estradiol levels in psychotic disorders. *Psychoneuroendocrinology.* 26: 27-35. 2001.
- Huerta R, Mena A, Malacara JM. Symptoms at perimenopausal period: its association with attitudes toward sexuality, lifestyle, family function, and FSH levels. *Psychoneuroendocrinology* 20: 135-148. 1995.
- Huerta R, Mena A, Malacara JM. Symptoms at the menopausal and premenopausal years: their relationship with insulin, glucose, cortisol, FSH, prolactin, obesity and attitudes towards sexuality. *Psychoneuroendocrinology.* 20: 851-864. 1995.
- Jackson A, Uphouse L. Prior treatment with estrogen attenuates the effects of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist, 8-OH-DPAT, on lordosis behavior. *Horm Behav.* 30: 145-152. 1996.
- Jussofie A, Korner I, Schell C, Hiemke C. Time course of the effects of steroid hormone deprivation elicited by ovariectomy

or ovariectomy plus adrenalectomy on the affinity and density of GABA binding sites in distinct rat brain areas. *Exp Clin. Endocrinol Diabetes*. 103: 196-204. 1995.

- Kahn LS, Halbreich U. Oral contraceptives and mood. *Expert Opin Pharmacother*. 2001 Sep;2(9):1367-82.
- Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner*. 15: 175-191. 1991.
- Kawas C, Resnick S, Morrison A, Brookmeyer R, Corrada M, Zonderman A, Bacal C, Lingle DD, and Metter E. A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Neurology* 48: 1517-1521, 1997.
- Khisti RT, Chopde CT, Jain SP Antidepressant-like effect of the neurosteroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one in mice forced swim test. *Pharmacol Biochem Beba*. 67: 137-143 2000.
- Kitada Y, Miyauchi T, Satoh A. Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. *Eur J Pharmacol*. 72: 145-152. 1981.
- Kreiss DS, Lucki I Differential regulation of serotonin (5-HT) release in the striatum and hippocampus by 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors of the dorsal and median raphe nuclei. *J Pharmacol Exp Ther*. 269: 1268-1279. 1994.
- Kreiss DS, Lucki I. Effects of acute and repeated administration of antidepressant drugs on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine measured in vivo. *Journal Pharmacol Exp Ther*. 274: 866-76. 1995.

- Kritzer MF, Adler A, Bethea CL. Ovarian hormone influences on the density of immunoreactivity for tyrosine hydroxylase and serotonin in the primate corpus striatum. *Neuroscience.*;122:757-72 2003
- Kronenberg F. Hot flashes: epidemiology and physiology. *Ann N Y Acad Sci.*592:52-86. 13: 688-703. 1990.
- Kupperman HS, Blatt MHG, Wiesbader H, Filler W Comparative clinical evaluation of estrogenic preparations by the menopausal and amenorrheal indices. *J Clin Endocrinol Metab.* 1953.
- Laconi MR, Casteller G, Gargiulo PA, Bregonzio C, Cabrera RJ. The anxiolytic effect of allopregnanolone is associated with gonadal hormonal status in female rats. *Eur J Pharmacol.* 6: 111-116. 2001.
- Landry M, Di Paolo T. Effect of chronic estradiol, tamoxifen or raloxifene treatment on serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor. *Brain Res Mol Brain Res.* 10: 82-89. 2003.
- Lindsay R. The menopause and osteoporosis. *Obstet Gynecol* 87: 16S-19S. 1996.
- Lopez-Rubalcava C, Lucki I. Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology.* 22: 191-199. 2000,
- Lucki I Serotonin receptor specificity in anxiety disorders. *J Clin Psychiatry.* 57: 5-10 1996.
- Lucki I, Singh A, Kreiss DS Antidepressant-like behavioral effects of serotonin receptor agonists. *Neurosci Behav. Rev.* 18: 85-95. 1994.

- Lucki I. 5-HT<sub>1</sub> receptors and behavior. *Neurosci. Behav. Rev.* 16: 3-93. 1992.
- Lydiard RB .The role of GABA in anxiety disorders. *J. Clin. Psychiatry* 3:21-27. 2003.
- Majewska M, Harrison NL, Schwartz RD, Barker JL, Paul SM. Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science.* 232: 1004 -1007. 1986.
- Marcinkiewicz M, Verge D, Gozlan H. Autoradiographic evidence for the heterogeneity of 5-HT<sub>1</sub> sites in the rat brain. *Brain Res.* 291: 159-163. 1984.
- Marcondes FK, Miguel KJ, Melo LL, Spadari-Bratfisch RC. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav.* 74: 435-440. 2001.
- Martinez-Mota L, Contreras CM, Saavedra M Progesterone reduces immobility in rats forced to swim. *Arch Med Res* 30: 286-289. 1999.
- Martinez-Mota L, Estrada-Camarena E, Lopez-Rubalcava C. Interaction of desipramine with steroid hormones on experimental anxiety. *Psychoneuroendocrinology.* 25: 109-1020. 2000.
- Maswood N, Uphouse L. Modulation of the behavioral effects of 8-OH-DPAT by estrogen and DOI. *Pharmacol Biochem Behav.* 58: 859-866. 1997.
- McEwen BS, Alves SE, Bulloch K, Weiland NG. Variations in steroid hormones and the brain: implications for cognition and aging. *Neurology.* 48: S8-S15. 1997.

- McEwen BS, Alves SE. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocr Rev.* 20: 279-307. 1999.
- McEwen BS, Alves SH. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocr Rev.* 20: 278 -306. 1999.
- McKinlay JB, McKinlay SM, Brambilla DJ. The relative contribution of endocrine changes and social circumstances to depression in mid-aged women. *J. Health. Soc. Beba.* 28: 345-363. 1987.
- Meert TF, Colpaert FC The shock probe conflict procedure. A new assay responsive to benzodiazepines, barbiturates and related compounds. *Psychopharmacology*, 88: 445-450. 1986.
- Merchenthaler I, Funkhouser JM, Carver JM, Lundeen SG, Ghosh K, and Winnecker RC. The effect of estrogens and antiestrogens in a rat model for hot flush. *Maturitas* 30: 307-316, 1998.
- Middlemiss DN, Fozard JR 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin discriminates between subtypes of the 5-HT1 recognition site. *Eur. J. Pharmacol.* 90: 151-153. 1983,
- Miller HL, Delgado PL, Salomon RM, Berman R, Krystal JH, Heninger GR, Charney DS. Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant-induced remission of depression. *Arch Gen Psychiatry.* 53:117-128. 1996.
- Molina-Hernandez M, Contreras CM, Tellez-Alcantara P. Antidepressant-like effects of pregnancy and progesterone in Wistar rats as measured in the differential reinforcement of the low-rate 72 s task. *Psychopharmacology.*, 151: 306-11. 2000



- Morgan MA, Pfaff D.W. Effects of estrogen on activity and fear-related behaviors in mice. *Horm. Behav.* 40: 472-482. 2001.
- Osterlund MK, Hurd YL. Acute 17 beta-estradiol treatment downregulates serotonin 5HT1A receptor mRNA expression in the limbic system of female rats. *Brain Res Mol Brain Res*;55: 169-72 1998.
- Osterlund MK, Halldin C, Hurd YL. Effects of chronic 17beta-estradiol treatment on the serotonin 5-HT(1A) receptor mRNA and binding levels in the rat brain. *Synapse.* 35: 39-44. 2000.
- Owens, J. Stoney C. and Matthews K. Menopausal status influences ambulatory blood pressure levels and blood pressure changes during mental stress. *Circulation* 88: 2794-2802, 1993.
- Paganini-Hill A, Henderson VW. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *Am J Epidemiol.* 3:3-16. 1994
- Paoletti AM, Floris S, Mannias M, Orru M, Crippa D, Orlandi R, Del Zompo M M, Melis GB Evidence that cyproterone acetate improves psychological symptoms and enhances the activity of the dopaminergic system in postmenopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 86: 608-612. 2001.
- Pau KY, Hess DL, Kohama S, Bao J, Pau CY, Spies HG. Oestrogen upregulates noradrenaline release in the mediobasal hypothalamus and tyrosine hydroxylase gene expression in the brainstem of ovariectomized rhesus macaques. *J Neuroendocrinol.* 12: 899-909. 2000.
- Pearlstein TB, Stone AB, Lund SA, Scheft H, Zlotnick C, Brown WA. Comparison of fluoxetine, bupropion, and placebo

in the treatment of premenstrual dysphoric disorder. *J Clin Psychopharmacol.* 17: 261-6. 1997.

- Pearlstein TB. Hormones and depression: what are the facts about premenstrual syndrome, menopause and hormone replacement therapy? *Am J Obstet Gynecol.* 173: 646-653. 1995
- Picazo O, Fernandez-Guasti A. Anti-anxiety effects of progesterone and some of its reduced metabolites: an evaluation using the burying behavior test. *Brain Res.* 22: 135-141. 1995.
- Picazo O, Fernandez-Guasti A. Changes in experimental anxiety during pregnancy and lactation. *Physiol Behav.* 54: 295-299. 1993.
- Picazo, O., Fernandez-Guasti, A., Lemus, A.E., Garcia, G.A. A-ring reduced derivatives of two synthetic progestins induce anxiolytic effects in ovariectomized rats. *Brain Res.* 796: 45-52. 1998.
- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 229: 327-336. 1977.
- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 21, 266: 730-732. 1977.
- Price LH, Charney DS, Heninger GR. Reserpine augmentation of desipramine in refractory depression: clinical and neurobiological effects. *Psychopharmacology.* 92: 431-437. 1987.

- Prior JC. Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition. *Endocr Rev.* 19: 397-428. 1998.
- Reddy DS. Pharmacology of endogenous neuroactive steroids. *Crit Rev Neurobiol.*15: 197-234. 2003.
- Robinson GE. Psychotic and mood disorders associated with the perimenopausal period: epidemiology, aetiology and management. *CNS Drugs.*15:175-184. 2001.
- Rodriguez-Manzo G, Pellicer F, Larsson K. Stimulation of the medial preoptic area facilitates sexual behavior but does not reverse sexual satiation. *Behav Neurosci.* 114: 553-560 2000.
- Rosenbaum JF. The drug treatment of anxiety. *N Engl J Med.* 18: 401-404. 1982.
- Salamanca S, Uphouse L. Estradiol modulation of the hyperphagia induced by the 5-HT1A agonist, 8-OH-DPAT. *Pharmacol Biochem Behav.* 43: 953-955. 1992.
- Schildkraut JJ The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry.* 122: 509-522. 1965.
- Schmidt PJ, Roca CA, Bloch M, Rubinow DR. The perimenopause and affective disorders. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 15:91-100. 1997
- Schoenfeld RI. Lysergic acid diethylamide- and mescaline-induced attenuation of the effect of punishment in the rat. *Science.* 21: 801-803. 1976.
- Schreiber R, De Vry J 5-HT1A receptor ligands in animal models of anxiety, impulsivity and depression: multiple

mechanisms of action? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 17: 87-104. 1993.

- Schreiber R, De Vry J. Neuronal circuits involved in the anxiolytic effects of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists 8-OH-DPAT ipsapirone and buspirone in the rat. *Eur J Pharmacol*. 16: 341-351. 1993.
- Schumacher M, Coirini H, McEwen BS. Regulation of high-affinity GABA<sub>A</sub> receptors in specific brain regions by ovarian hormones. *Neuroendocrinology*. 50: 315-320. 1989.
- Serova L, Rivkin M, Nakashima A, Sabban EL. Estradiol stimulates gene expression of norepinephrine biosynthetic enzymes in rat locus coeruleus. *Neuroendocrinology*. 75: 193-200. 2002.
- Sharp T, Bramwell SR, Grahame-Smith DG. Release of endogenous 5-hydroxytryptamine in rat ventral hippocampus evoked by electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus as detected by microdialysis: sensitivity to tetrodotoxin, calcium and calcium antagonists. *Neuroscience*. 39: 629-637. 1990.
- Shopsin B, Gershon S, Goldstein M. Use of synthesis inhibitors in defining a role for biogenic amines during imipramine treatment in depressed patients. *Psychopharmacol Común*. 1: 239-249. 1975.
- Sotelo C, Cholley B, El Mestikawy S, Gozlan H, Hamon M. Direct Immunohistochemical Evidence of the Existence of 5-HT<sub>1A</sub> Autoreceptors on Serotonergic Neurons in the Midbrain Raphe Nuclei. *Eur J Neurosci*. 2: 1144-1154. 1990.
- Sprouse JS, Aghajanian GK. Responses of hippocampal pyramidal cells to putative serotonin 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub>

agonists: a comparative study with dorsal raphe neurons. *Neuropharmacology*, 27: 707-715. 1988.

- Stuart S, Couser G, Schilder K, O'Hara MW, Gorman L. Postpartum anxiety and depression: onset and comorbidity in a community sample. *J Nerv Ment Dis*. 186: 420-424. 1998.
- Tang MX, Jacobs D, Stern Y. Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet*. 348:429-432. 1996.
- Tatarczynska E, Antkiewicz-Michaluk L, Klodzinska A, Stachowicz K, Chojnacka-Wojcik E. Antidepressant-like effect of the selective 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonist CP 94253: a possible mechanism of action. *Eur J Pharmacol*. 516: 46-50. 2005.
- Thanky NR, Son JH, Herbison AE. Sex differences in the regulation of tyrosine hydroxylase gene transcription by estrogen in the locus coeruleus of TH9-LacZ transgenic mice. *Brain Res Mol Brain Res*. 15: 220-226. 2002.
- Tominaga K, Yamauchi A, Shuto H, Niizeki M, Makino K, Oishi R, Kataoka Y. Ovariectomy aggravates convulsions and hippocampal gamma-aminobutyric acid inhibition induced by cyclosporin A in rats. *Eur J Pharmacol*. 2: 243-249. 2001.
- Treit D, Pinel JP, Fibiger HC. Conditioned defensive burying: a new paradigm for the study of anxiolytic agents. *Pharmacol Biochem Behav*. 15: 619-626. 1981.
- Twyman RE, Macdonald RL. Kinetic properties of the glycine receptor main- and sub-conductance states of mouse spinal cord neurones in culture. *J Physiol*. 435: 303-331. 1991.

- Tye NC, Iversen SD, Green AR. The effects of benzodiazepines and serotonergic manipulations on punished responding. *Neuropharmacology* 18: 689-695. 1979,
- Uphouse L, Caldarola-Pastuszka M, Moore N. Inhibitory effects of the 5-HT<sub>1A</sub> agonists, 5-hydroxy- and 5-methoxy-(3-di-n-propylamino)chroman, on female lordosis behavior. *Neuropharmacology*. 32: 641-651. 1993.
- Vetulani J, Sulser F Action of various antidepressant treatments reduces reactivity of noradrenergic cyclic AMP-generating system in limbic forebrain. *Nature* 257: 495-496. 1975,
- Wieland S, Lucki I Antidepressant-like activity of 5-HT<sub>1A</sub> agonists measured with the forced swim test. *Psychopharmacology* 101: 497-504. 1990.
- Willner P, Muscat R, Papp M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Behav Rev.* 16: 525-534. 1992.
- Wise PM, Kashon ML, Krajnak KM, Rosewell KL, Cai A, Scarbrough K, Harney JP, McShane T, Lloyd JM, Weiland NG. Aging of the female reproductive system: a window into brain aging. *Recent Prog Horm Res* 52:279-305. 1997.
- Wise PM, Ratner A. Effect of ovariectomy on plasma LH, FSH, estradiol, and progesterone and medial basal hypothalamic LHRH concentrations old and young rats. *Neuroendocrinology*. 30: 15-19. 1980.
- Young SN, Smith SE, Pihl RO, Ervin FR. Tryptophan depletion causes a rapid lowering of mood in normal males. *Psychopharmacology*. 87: 173-177. 1985.

- DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4° Edición) en Estados Unidos y del ICD-10 (International Classification of Diseases).