



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN

Departamento de Farmacobiología

**Evaluación del efecto antidepresivo de dizocilpina (MK-801) y su  
interacción con antidepresivos serotoninérgicos y  
noradrenérgicos en ratas con diferente sensibilidad al estrés  
(Wistar y Wistar Kyoto)**

Tesis que presenta:

**Jessica Montserrat Chan Monroy**

Para obtener el Grado de:

**Maestra en Ciencias en**

**Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

Directora de Tesis:

**Dra. Carolina López Rubalcava**

Ciudad de México

Marzo, 2019

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo se lo dedico a mis padres y a mi hermano que siempre me han brindado su apoyo, consejos y regaños, pues gracias a ellos que me impulsaron a continuar a pesar de las adversidades pude finalizar esta tesis.

A mi tutora la Dra. Carolina López Rubalcava, por todos sus consejos, por la paciencia y dedicación que me brindo a lo largo de estos 2 años y medio y gracias a los cuales logré culminar la presente tesis.

A mi sínodo la Dra. Erika Monserrat Estrada Camarena y al Dr. José Alonso Fernández Guasti, por todos sus comentarios y aportaciones a lo largo de los avances y en el desarrollo de esta tesis.

Agradezco especialmente a Ángel, mi gran apoyo, psicólogo y sobre todo el mejor novio, que siempre ha estado a mi lado impulsándome y confiando en mí, incluso cuando ni yo misma lo hago.

A mis grandes amiguitos del laboratorio 17, Elena, Héctor, Meli, Dany, Brenda, Ale, Adri, Helena y Dona, por todos los bellos y divertidos momentos que compartimos a lo largo de estos 2 años, por sus consejos académicos y personales, por siempre orientarme, o darme ánimos en los momentos difíciles, por ser siempre los mejores amigos del mundo.

A Isa, te agradezco por todas tus enseñanzas no solo del laboratorio, si no personales, más que una técnico para mi eres una excelente amiguita y una gran mujer.

A todos los doctores del departamento de farmacología que aportaron de una u otra manera sus conocimientos para ayudarme a mejorar y a realizar este trabajo.

Especialmente agradezco a todas las bellas ratitas que dieron sus vidas para poder llevar a cabo este trabajo.

En general me gustaría agradecer a todas aquellas personas amigos y familiares que me han apoyado a lo largo del camino, que han compartido mis alegrías, que me motivaron a seguir adelante, y que de una u otra manera me ayudaron a ser una mejor persona y a culminar este trabajo

A todos ellos, muchas gracias

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	IV
ÍNDICE DE TABLAS .....	VI
ABREVIATURAS.....	VII
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT .....	XI
I. INTRODUCCION .....	1
1. DEPRESIÓN .....	1
1.1. Definición de la Depresión .....	1
1.2. Clasificación de los trastornos depresivos.....	1
1.3. Epidemiología de la depresión.....	2
2. Neurobiología de la depresión .....	5
2.2. Sistemas de Neurotransmisión involucrados en la depresión. ....	6
3. Tratamiento farmacológico.....	8
4. Glutamato y Depresión.....	12
4.1. El sistema Glutamatérgico .....	12
4.2. Receptores a glutamato .....	13
4.3. Receptor NMDA .....	15
4.4. Sistema Glutamatérgico y depresión.....	16
4.5. Fármacos antidepresivos y su acción sobre el receptor NMDA .....	16
4.6. Dizocilpina (MK-801) como fármaco antidepresivo .....	17
5. Estrés y depresión.....	20
5.1. Respuesta al estrés.....	20
5.2. Evidencias de la relación de estrés y depresión.....	22
5.3. Estrés y glutamato .....	23
6. Modelos animales de depresión. ....	24
6.1. Criterios de validación para los modelos animales de trastornos psiquiátricos .....	26
6.2. Prueba de nado forzado .....	26
7. Neurotoxinas.....	27
8. Cepa Wistar Kyoto, un modelo endógeno para el estudio de depresión. ....	29
II. JUSTIFICACION.....	32
III. HIPÓTESIS .....	33
IV. OBJETIVO GENERAL .....	34

<b>V. OBJETIVOS PARTICULARES.....</b>	<b>34</b>
<b>VI. METODOLOGÍA .....</b>	<b>35</b>
<b>1. SUJETOS EXPERIMENTALES.....</b>	<b>35</b>
<b>2. FÁRMACOS.....</b>	<b>35</b>
<b>3. PRUEBAS CONDUCTUALES.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1. PRUEBA NADO FORZADO .....</b>	<b>35</b>
<b>3.2. ANALISIS CONDUCTUAL.....</b>	<b>36</b>
<b>3.3. PRUEBA DE CAMPO ABIERTO.....</b>	<b>37</b>
<b>4. DISEÑO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>37</b>
<b>Experimento 1- Efecto del tratamiento agudo de MK-801 en la prueba de nado forzado en ratas de la cepa Wistar y de la cepa WKY.....</b>	<b>37</b>
<b>Experimento 2- Efecto del tratamiento subcrónico de MK-801 y de los antidepresivos desipramina y sertralina en la prueba de nado forzado en ratas de la cepa Wistar y de la cepa WKY.....</b>	<b>38</b>
<b>Experimento 3 Efecto antidepresivo del tratamiento subcrónico de la combinación de dosis subóptimas de MK-801, desipramina o sertralina en ambas cepas.....</b>	<b>38</b>
<b>Experimento 4 Determinar la participación de los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico en el efecto tipo antidepresivo de MK-801 administrado de manera aguda en ambas cepas.....</b>	<b>39</b>
<b>5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>40</b>
<b>VII. RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
<b>1. Diferencias basales entre cepas.....</b>	<b>41</b>
• <b>Prueba de nado forzado.....</b>	<b>41</b>
• <b>Actividad locomotora .....</b>	<b>41</b>
<b>2. Efecto del tratamiento agudo con MK-801 en ambas cepas.....</b>	<b>42</b>
• <b>Prueba de Nado Forzado .....</b>	<b>42</b>
• <b>Actividad locomotora .....</b>	<b>43</b>
<b>3. Efecto del tratamiento subcrónico de MK-801, desipramina o sertralina en ambas cepas .....</b>	<b>44</b>
<b>3.1. Tratamiento subcrónico con MK-801 .....</b>	<b>44</b>
• <b>Prueba de Nado Forzado .....</b>	<b>44</b>
• <b>Actividad locomotora .....</b>	<b>45</b>
<b>3.2. Tratamiento subcrónico con desipramina (DMI).....</b>	<b>46</b>
• <b>Prueba de nado forzado.....</b>	<b>46</b>
• <b>Actividad locomotora .....</b>	<b>47</b>
<b>3.3. Tratamiento subcrónico con Sertralina .....</b>	<b>48</b>
• <b>Prueba de nado forzado.....</b>	<b>48</b>

• Actividad locomotora .....	49
<b>4. Efecto antidepressivo del tratamiento subcrónico de la combinación de dosis subóptimas de MK-801, desipramina o sertralina en ambas cepas. ....</b>	<b>50</b>
• Prueba de nado forzado .....	50
• Actividad locomotora .....	51
<b>5. Participación de los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico en el efecto tipo antidepressivo de MK-801 administrado de manera aguda en ambas cepas.....</b>	<b>54</b>
<b>5.1 Efecto de la administración de PCPA solo y en combinación con DSP4 en la prueba de nado forzado .....</b>	<b>54</b>
<b>5.2 Participación del sistema serotoninérgico en el efecto antidepressivo de MK-801 .....</b>	<b>56</b>
• Prueba de nado forzado .....	56
• Actividad locomotora .....	57
<b>5.3. Participación del sistema noradrenérgico en el efecto antidepressivo de MK-801.....</b>	<b>59</b>
• Prueba de nado forzado .....	59
• Actividad locomotora .....	60
<b>VIII. DISCUSIÓN .....</b>	<b>63</b>
<b>1. Diferencias basales entre la cepa Wistar y WKY .....</b>	<b>63</b>
<b>2. Efecto antidepressivo del tratamiento agudo con MK-801 .....</b>	<b>64</b>
<b>3. Efecto antidepressivo del tratamiento subcrónico con MK-801 .....</b>	<b>66</b>
<b>4. Efecto de los antidepressivos desipramina y sertralina en ratas Wistar y WKY. ....</b>	<b>67</b>
<b>4.1. Tratamiento subcrónico con desipramina en ratas Wistar y WKY .....</b>	<b>68</b>
<b>4.2. Efecto antidepressivo del tratamiento subcrónico con sertralina.....</b>	<b>69</b>
<b>5. Efecto de la combinación de dosis subóptimas de DMI o Sertralina con MK-801 en las cepas Wistar y WKY .....</b>	<b>70</b>
<b>6. Análisis de la participación de los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico en el efecto antidepressivo de MK-801 .....</b>	<b>71</b>
<b>IX. CONCLUSIONES.....</b>	<b>76</b>
<b>X. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>77</b>
<b>XI. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>78</b>

## ÍNDICE DE FÍGURAS

Figura 1 Prevalencia a mundial de trastornos depresivos, por edad y sexo.....	3
Figura 2 Prevalencia de episodios depresivos por sexo y edad en México durante el 2002.....	4
Figura 3 Porcentaje de integrantes del hogar de 7 años y más con depresión, por grupos de edad en México durante del 2015 .....	4
Figura 4 Teoría monoaminérgica.....	7
Figura 5. Neurotransmisión Glutamatérgica.. .....	13
Figura 6 Clasificación de los receptores a glutamato y subunidades que los conforman. ....	14
Figura 7 Estructura del receptor NMDA .....	15
Figure 8 Estructura química de dizocilpina o MK-801 .....	18
Figura 9 Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal.....	21
Figure 10 Estructura química del PCPA.....	28
Figura 11 Estructura química del DSP4.....	29
Figura 12 Conductas observadas durante la prueba de nado forzado .....	36
Figura 13 Arena utilizada para la prueba de campo abierto.....	37
Figura 14 Diferencias basales entre la cepa Wistar y WKY en la prueba de nado forzado.....	41
Figura 15 Diferencias basales en la actividad locomotora entre las cepas Wistar y WKY.. ..	41
Figura 16 Efecto de la administración aguda de MK-801 a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. ....	42
Figura 17 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de MK-801 en ambas cepas expresado como Tasa de cambio con respecto al control con respecto al control.....	43
Figura 18. Efecto el tratamiento subcrónico con MK-801 a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. ....	44
Figura 19 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de MK-801 de manera subcrónica en ambas cepas expresado como tasa de cambio con respecto al control.....	45

<b>Figura 20 Efecto el tratamiento subcrónico con DMI a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. ....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 21 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de DMI de forma subcrónica en ambas cepas expresada como tasa de cambio con respecto al control.....</b>	<b>47</b>
<b>Figura 22 Efecto el tratamiento subcrónico con Sertralina a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. ....</b>	<b>48</b>
<b>Figura 23 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de sertralina en ambas cepas expresado como tasa de cambio con respecto al control .....</b>	<b>49</b>
<b>Figura 24. Efecto de la administración subcrónica de sertralina sola (1.25 mg/kg) o en combinación con MK-801 (1.25 µg/kg) en ambas cepas.....</b>	<b>50</b>
<b>Figura 25 Efecto de la administración subcrónica de DMI solo (1.25 mg/kg) o en combinación con MK-801 (1.25 µg/kg) en ambas cepas.....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 26 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto con la administración subcrónica de los fármacos solos o combinados en ambas cepas. ....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 27 Efecto de la administración de PCPA solo y en combinación con DSP4 en la prueba de nado forzado. ....</b>	<b>54</b>
<b>Figura 28 Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pre tratados con PCPA en la prueba de nado forzado. ....</b>	<b>56</b>
<b>Figura 29 Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pretratados con PCPA sobre la actividad locomotora expresado como tasa de cambio con respecto al vehículo. L.....</b>	<b>57</b>
<b>Figura 30 Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pretratados con DSP4 en combinación con PCPA en la prueba de nado forzado.....</b>	<b>59</b>
<b>Figura 31 Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pretratados con DSP4 en combinación con PCPA sobre la actividad locomotora expresado como tasa de cambio con respecto al grupo tratado con ambas neurotóxicas.....</b>	<b>60</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Fármacos inhibidores de la enzima monoaminoxidasa utilizados como antidepresivos.</b>	<b>9</b>
<b>Tabla 2. Ejemplos de antidepresivos tricíclicos. ....</b>	<b>10</b>
<b>Tabla 3 Fármacos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina. ....</b>	<b>11</b>
<b>Tabla 4 Evaluación del efecto antidepresivo de MK-801 en distintas especies. ....</b>	<b>19</b>
<b>Tabla 5 Modelos de depresión basados principalmente en las modificaciones de los mecanismos cerebrales que regulación las emociones y la motivación.. ....</b>	<b>24</b>



## **ABREVIATURAS**

**µg: microgramos**

**5-HT: serotonina**

**ACTH: Hormona Adrenocorticotrófica**

**AMPA: Ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxasol**

**ANOVA: Análisis de varianza**

**CRH: Hormona liberadora de corticotrofina**

**DA: Dopamina**

**DMI: Desipramina**

**DRN: Núcleo Dorsal del Rafé**

**DSM-V: Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales quinta edición**

**DSP4: N-(2-cloroetil)-N-etil-2-bromo benzilamina**

**EAAT2: Transportador de aminoácidos Excitadores del tipo 2**

**HHA: Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal**

**i.p : intraperitoneal**

**iMAOS: inhibidores de la enzima monoaminoxidasasa**

**INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía**

**ISRN: inhibidor selectivo de la recaptura de noradrenalina**

**ISRS: inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina**

**kg: kilogramos**

**LC: Locus Coeruleus**

**MAO: enzima monoaminoxidasas**

**mGluRs: receptor metabotrópico de glutamato**

**MK-801: Dizocilpina**

**mPFC: corteza prefrontal medial**

**NA: Noradrenalina**

**NET: transportador de noradrenalina**

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

**OMS: organización Mundial de la Salud**

**PCPA: p-clorofenilalanina**

**Ser: sertralina**

**SERT: transportador de serotonina**

**TCAs: antidepresivos tricíclicos**

**Veh.: Vehículo**

## RESUMEN

La depresión es uno de los trastornos psiquiátricos más comunes a nivel mundial, y que está relacionado con altos niveles de estrés. Aunque existen diferentes terapias farmacológicas basadas principalmente en la modulación de las vías de neurotransmisión monoaminérgicas, solamente el 50% de los pacientes tratados reporta mejorías, aparte de ser necesarias al menos dos semanas de tratamiento para comenzar a experimentarlas. Dados estos inconvenientes, es de suma importancia buscar tratamientos alternativos para la depresión cuyo blanco terapéutico sea distinto a los tratamientos tradicionales.

Se propone al sistema glutamatérgico como una alternativa, ya que en diversos estudios clínicos y preclínicos se ha observado que la administración de antagonistas glutamatérgicos, como la ketamina o el MK-801 (antagonistas no competitivos del receptor NMDA), induce efectos antidepresivos rápidos. Sin embargo, hay pocos estudios que analicen esta posibilidad y los resultados son inconsistentes.

El objetivo general de este trabajo fue el de evaluar los efectos antidepresivos del MK-801 administrando de manera aguda o subcrónica en dos cepas de rata con diferente sensibilidad al estrés (Wistar y WKY). También se estudió el efecto de la combinación de dosis sub-óptimas de MK-801 con antidepresivos clásicos como la desipramina (antidepresivo noradrenérgico) o sertralina (inhibidor de la recaptura de serotonina). Por último, se analizó la participación del sistema serotoninérgico y noradrenérgico en el mecanismo de acción del MK-801.

Los resultados muestran que el MK-801 tanto agudo como subcrónico tuvo un efecto antidepresivo caracterizado por una disminución en la conducta de inmovilidad y un aumento en la conducta de nado, en ambas cepas. La cepa WKY fue más sensible al efecto del fármaco puesto que presenta un efecto antidepresivo a dosis menores que en la cepa control. Por su parte, la desipramina sola presentó un efecto antidepresivo caracterizado por una reducción en la conducta de inmovilidad y un aumento en la conducta de escalamiento, en ambas cepas; mientras que la sertralina presentó un efecto antidepresivo caracterizado por una reducción en la conducta de inmovilidad y un aumento en la conducta de nado. En todos los casos, la cepa WKY fue más sensible a los efectos de los fármacos ya que se presentaron efectos tipo antidepresivos a dosis menores en comparación con la cepa Wistar.

Únicamente en la cepa WKY la combinación de fármacos (MK-801+DMI y MK-801+sertralina) presentó un efecto tipo antidepresivo, disminuyendo la conducta de inmovilidad e incrementando la conducta de nado en ambos casos.

Al depletar el sistema serotoninérgico y el sistema noradrenérgico con las neurotoxinas específicas PCPA y DSP4, se observó un efecto tipo antidepresivo del MK-801, principalmente

en la cepa WKY. Se sugiere que el MK-801 estimula un mecanismo compensatorio a través del sistema dopaminérgico, que le permite seguir teniendo efectos tipo antidepresivo.

En conclusión, la cepa WKY fue más sensible al efecto antidepresivo de los tratamientos evaluados. El efecto antidepresivo de MK-801 parece estar mediado por el sistema serotoninérgico, sin embargo, en ausencia de serotonina el MK-801 parece ejercer sus efectos a través de la estimulación de los sistemas de neurotransmisión catecolaminérgicos.

## ABSTRACT

Depression is one of the most common psychiatric disorders worldwide, and it is related to high stress levels. Although there are different pharmacological therapies already available, about 50% of the patients with depression find no relieve, and the ones that do, have to wait up to two weeks of treatment before experimenting any clinical improvement. Given these drawbacks, the search for alternative treatments, focusing on different neurotransmission pathways is imperative.

The glutamatergic system has been proposed as one of the possible alternatives. Several preclinical and clinical studies have shown that the administration of glutamatergic antagonists, such as ketamine or MK-801 (non-competitive antagonists of the NMDA receptor), induce rapid antidepressant effects. However, the results are inconsistent. Therefore, the main goal of this work was to evaluate the antidepressant-like effects of the subchronic and acute administration of MK-801 in two rat strains with different stress sensitivity (Wistar and WKY). The effect of the combination of sub-optimal doses of MK-801 with classical antidepressants such as desipramine (noradrenergic antidepressant) or sertraline (serotonin reuptake inhibitor) was also studied. Finally, the participation of the serotonergic and noradrenergic systems in the mechanism of action of MK-801 was analyzed.

The results show that both, acute and subchronic MK-801 administration, had an antidepressant effect characterized by a decreased immobility behavior and an increased swimming behavior in both strains. Desipramine alone had an antidepressant-like effect characterized by a reduction in immobility behavior and an increase in climbing behavior in both strains; whereas sertraline presented an antidepressant-like effect characterized by a reduction in immobility behavior and an increase in swimming behavior. In all cases, the WKY rats showed a better response to treatment since lower doses of antidepressants were needed to elicit a therapeutic effect.

Only in the WKY strain the combination of drugs (MK-801 + DMI and MK-801 + sertraline) had an antidepressant-like effect, decreasing the immobility behavior and increasing the swimming behavior in both cases.

When depleting the serotonergic system and the noradrenergic system with the specific neurotoxins, PCPA and DSP4, an antidepressant-like effect of MK-801 was observed, mainly in the WKY strain. It is suggested that the MK-801 stimulate a compensatory mechanism through the dopaminergic system, which allows it to continue having antidepressant-type effects.

In conclusion, the WKY strain was more sensitive to the antidepressant effect of the evaluated treatments. The antidepressant effect of MK-801 seems to be mediated by the serotonergic system, however, in the absence of serotonin, MK-801 seems to exert its effects through the stimulation of other catechoamine neurotransmission systems.

## **I. INTRODUCCION**

### **1. DEPRESIÓN**

#### **1.1 Definición de la Depresión**

La depresión es un trastorno psiquiátrico que se caracteriza por sentimientos de tristeza, pérdida de interés en actividades que anteriormente se disfrutaban (anhedonia), cambios en el apetito (pérdida o ganancia de peso), insomnio o hipersomnias, fatiga excesiva, agitación o retraso psicomotor, sentimientos de culpa, baja autoestima, disminución de la capacidad para concentrarse y/o para tomar decisiones y pensamientos suicidas (American Psychiatric Association, APA, 2014).

Este trastorno tiene comorbilidad con una gran cantidad de problemas físicos y emocionales que disminuyen las habilidades funcionales de la persona que la padece, tanto en su vida laboral como personal. Debido a la severidad de sus síntomas es una de las principales causas de discapacidad a nivel mundial (OMS,2015).

Aproximadamente el 60 % de los individuos que sufrieron un episodio depresivo podrían sufrir un segundo, y alrededor del 70% de las personas que presenta dos episodios depresivos probablemente presentarán un tercer episodio, la probabilidad de que estos últimos sufran un cuarto episodio incrementa hasta un 90% (Pettit y cols. 2006).

#### **1.2 Clasificación de los trastornos depresivos**

De acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-V,2014) los trastornos depresivos se clasifican en:

- Trastorno depresivo mayor
- Trastorno de desregulación disruptiva del estado de ánimo
- Trastorno depresivo persistente (distimia)
- Trastorno disfórico premenstrual
- Trastorno depresivo inducido por alguna sustancia /medicamento
- Trastorno depresivo debido a otra afección médica.

El rasgo común de todos los trastornos depresivos es la presencia de un estado de ánimo triste, o irritable acompañado de cambios somáticos y cognitivos que afectan significativamente la capacidad funcional del individuo. Lo que los diferencia es la duración, la presentación temporal o la etiología del trastorno (DSM-V,2014).

Particularmente el trastorno depresivo mayor representa el trastorno clásico de este grupo. Se caracteriza por la presencia de episodios depresivos que deben persistir durante al menos dos semanas, tiempo durante el cual existe un estado de ánimo deprimido o pérdida de interés o de placer en la mayoría de las actividades que realiza el paciente (DSM-V,2014). Además, para que un episodio depresivo mayor sea considerado como tal, el paciente debe experimentar al menos cuatro de los siguientes síntomas: cambios en el apetito, cambios en el peso corporal, alteraciones en la actividad psicomotora, fatiga, sentimientos de inutilidad o culpa, dificultad para pensar o concentrarse, dificultad para tomar decisiones y pensamientos recurrentes de muerte o ideación suicida, e incluso planes o intentos de suicidio (DSM-V,2014).

### **1.3 Epidemiología de la depresión**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó en el año 2015 que aproximadamente 350 millones de personas alrededor del mundo padecían este trastorno, siendo mayor la prevalencia en mujeres que en hombres (5.1 % vs 3.6 respectivamente). Los grupos con mayor susceptibilidad son los jóvenes y los adultos mayores (Figura 1). Además, la depresión es una de las principales causas de suicidio a nivel mundial, tan solo en el año 2015 se suicidaron cerca de 800,000 personas, convirtiendo al suicidio en la segunda causa de muerte en jóvenes de entre 15 a 29 años.

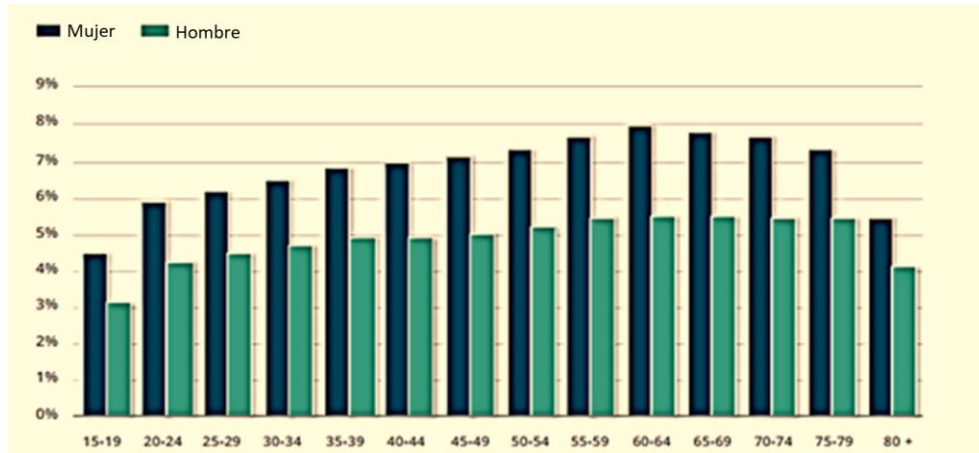


Figura 1 Prevalencia a mundial de trastornos depresivos, por edad y sexo. Modificada de World Health Organization, 2017.

De acuerdo con la Entrevista Nacional de Comorbilidad realizada en México entre el año 2001 y 2002 a un total de 5,782 personas de entre 18 y 65 años, se encontró a la depresión como el tercer trastorno psiquiátrico más frecuente. En esta encuesta se reportó que el 9.2% de la población mexicana ha tenido por lo menos un episodio depresivo a lo largo de la vida, con una prevalencia anual del 4.8 %. Con respecto a la prevalencia de los trastornos depresivos en esta encuesta se encontró que el 7.8% de los encuestados presentan depresión mayor, con una tasa de 2.5 mujeres por cada varón (INEGI, Encuesta Nacional de Comorbilidad, 2015).

Otro estudio publicado por Bello y cols. 2005, reportó que en el año 2002 en México la prevalencia de mujeres mexicanas menores de 40 años de edad que sufrían depresión era significativamente menor que en los grupos de entre 40 a 59 años y de 60 o más. En este estudio también se reportó que en los 3 grupos analizados las mujeres presentan mayor incidencia de depresión que los hombres (Figura 2).



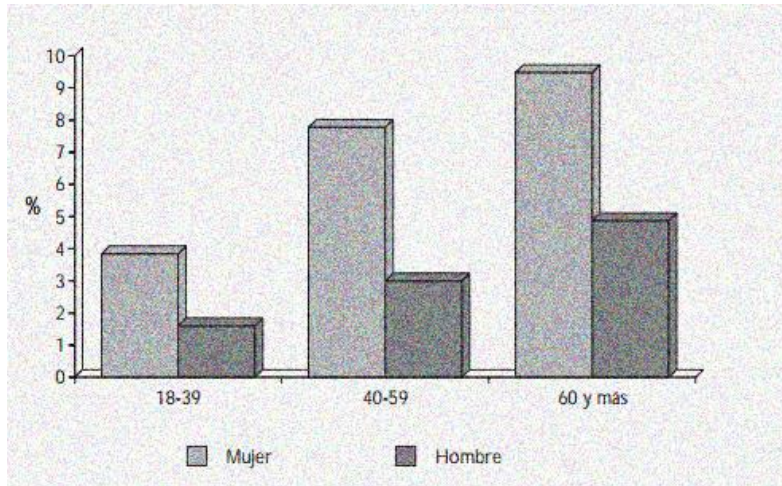


Figura 2 Prevalencia de episodios depresivos por sexo y edad en México durante el 2002. Modificada de Belló et al., 2005.

En años más recientes, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en la Encuesta Nacional de Hogares 2015 reportó que en México existían 34.85 millones de personas que habían presentado depresión, de las cuales 14.48 millones son hombres y 20.37 millones son mujeres. El INEGI también reportó que el 27.7% de los encuestados que presentaron depresión tenían 7 años o más, y este porcentaje se incrementaba con respecto a la edad, siendo el grupo de 65 años o más el que mostró mayor prevalencia de depresión con un 42.9% (figura 3).

Interesantemente, del total de personas que reportaron depresión, sólo 1.63 millones se encontraban bajo tratamiento farmacológico.

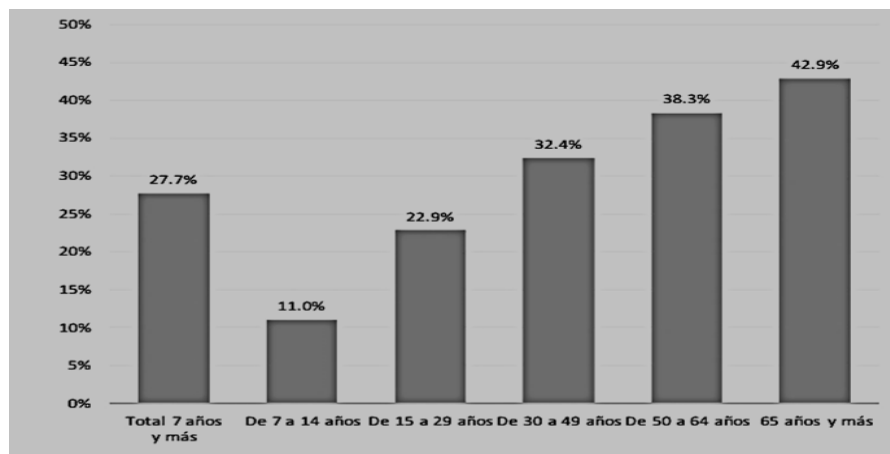


Figura 3 Porcentaje de integrantes del hogar de 7 años y más con depresión, por grupos de edad en México durante del 2015. Modificada de Encuesta Nacional de Hogares , INEGI, 2015

## 2. Neurobiología de la depresión

### 2.1 Áreas Cerebrales

En diversas investigaciones se ha tratado de encontrar que áreas y circuitos neuronales se ven afectados en los individuos que sufren depresión. Con ayuda de técnicas sofisticadas de resonancia magnética funcional e imagenología se han podido analizar las lesiones cerebrales relacionadas con los trastornos del estado de ánimo, encontrando la presencia de daño en las redes neuronales de la corteza prefrontal media y orbital con otras estructuras como el estriado, tálamo, hipocampo, y el lóbulo temporal (Charney, 2013).

En pacientes con trastorno depresivo mayor, de acuerdo con estudios *in vivo*, se ha sugerido que tanto la corteza prefrontal ventromedial (la cual media respuestas relacionadas la agresión, función sexual, conductas de ingesta) como en la corteza prefrontal orbitolateral (que se encarga de la evaluación de riesgos, perseverancia, etc.) se encuentran hiperactivas, mientras que la corteza prefrontal dorsolateral, la cual se encarga de mantener las funciones ejecutivas, la atención y la memoria de trabajo, se encuentra hipoactiva (Livia Chiriță, y cols., 2015). Estas disfunciones en la actividad de estas áreas podrían estar relacionadas con los cambios emocionales observados en las personas con depresión.

En relación con la efectividad de la comunicación entre diversas áreas cerebrales Anand y cols., 2005 encontraron que la comunicación entre la amígdala y la corteza del cíngulo anterior se encuentra disminuida, razón por la cual es posible, que en pacientes con depresión no exista un adecuado control de las regiones subcorticales encargadas del control de las emociones.

Además, en los individuos deprimidos la actividad del llamado circuito de recompensa (el cual está conformado principalmente por la corteza prefrontal, el núcleo accumbens, área tegmental ventral, amígdala e hipocampo) se encuentra reducida. Las disfunciones en este circuito se han relacionado con la anhedonia presente en este trastorno (Heshmati & Russo, 2015).

Además de cambios en la funcionalidad de estas áreas, también se han observado que el volumen de la corteza orbitofrontal, la corteza del cíngulo anterior, e hipocampo se ve reducido (Musazzi, y cols 2012).

Las alteraciones presentes en las diversas áreas cerebrales ya mencionadas, podrían explicar los síntomas psicológicos, así como las disfunciones en la memoria (por ejemplo, en la memoria explícita o la memoria de trabajo) que se presentan en la depresión (Kassel y cols., 2016).

Sin embargo, la etiología de este trastorno no sólo implica cambios a nivel fisiológico y funcional de las estructuras cerebrales, sino que también existan cambios en diversos sistemas de neurotransmisión, además de otros factores como la neurogénesis, factores genéticos, factores ambientales y procesos inflamatorios, razón por la cual la depresión es considerada como un trastorno heterogéneo y multifactorial.

## **2.2 Sistemas de Neurotransmisión involucrados en la depresión.**

La primera hipótesis que surgió para explicar la depresión se basaba en el mecanismo de acción de los primeros fármacos antidepresivos. Esta hipótesis postula que en los individuos deprimidos existen disfunciones en la síntesis, liberación o recaptura de serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) y dopamina (DA) lo que provoca que los niveles de estos neurotransmisores se encuentren disminuidos tanto en áreas corticales como límbicas del cerebro, y que, al bloquear los sistemas de degradación o recaptura, los niveles de estos neurotransmisores en el espacio sináptico aumentan, permitiendo que estos actúen sobre sus respectivos receptores de manera adecuada (fig. 4) (Charney, 2013).

Sin embargo, esta teoría no explica por qué, a pesar de que se observa un aumento en los niveles de los neurotransmisores en el espacio sináptico de manera inmediata, los pacientes observan mejoría clínica hasta dos semanas o más después de iniciar el tratamiento con antidepresivos (Kropotov, y cols.,2009) y además cerca de la mitad de estos pacientes presentan resistencia al tratamiento (Machado-Vieira, y cols., 2017).

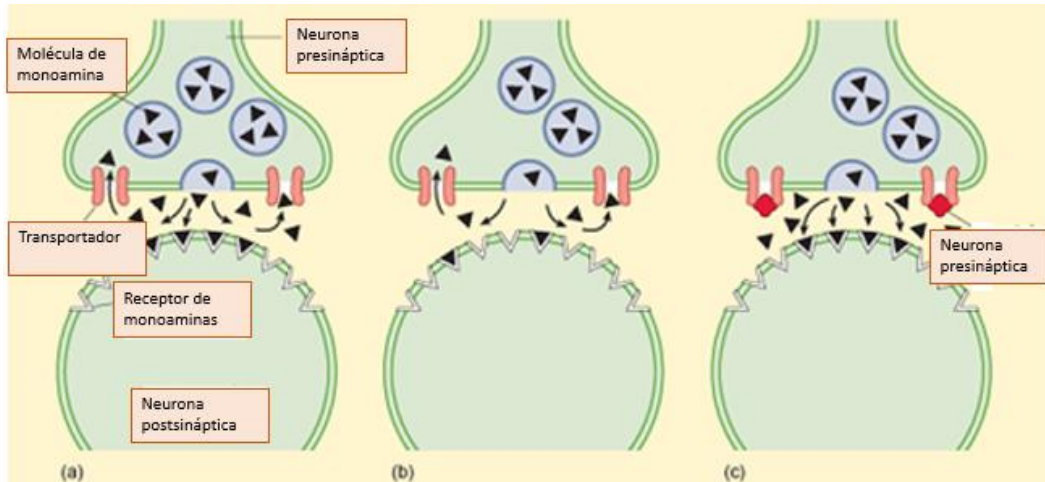


Figura 4 Teoría monoaminérgica. a) Sinapsis normal en donde las monoaminas (triángulos negros) son liberadas y se unen a sus respectivos receptores postsinápticos. b) sinapsis en un individuo deprimido, existe una disminución en la concentración de monoaminas y por lo tanto se produce el trastorno del estado de ánimo. c) los antidepresivos clásicos (rombos rojos), bloquean los sitios de recaptura, incrementando las concentraciones de monoaminas en el espacio sináptico, produciendo la restauración del estado de ánimo. Modificada de [www.open.edu/openlearn](http://www.open.edu/openlearn)

Esta hipótesis durante mucho tiempo fue la piedra angular para el estudio de la depresión, sin embargo, en estudios más recientes se ha prestado atención a otros sistemas de neurotransmisión tales como el glutamatérgico y el GABAérgico, así como el papel de la neuroplasticidad, que se encuentra afectada en pacientes con trastorno depresivo mayor (Charney, 2013).

Como ya se mencionó, otro sistema de neurotransmisión que se ha relacionado con la depresión es el glutamatérgico. Se cree que en este trastorno existe una desregulación en la neurotransmisión excitadora (glutamatérgica) en áreas como la corteza del cíngulo ventral anterior que conlleva a la reducción de la actividad de los sistemas monoaminérgicos, lo que contribuye a la aparición de los síntomas afectivos y cognitivos de la depresión (Caraci y cols., 2018).

No obstante, aún no se conoce a ciencia cierta el papel de la neurotransmisión glutamatérgica en la depresión. Más adelante se explicará este sistema y algunas evidencias que lo relacionan con este trastorno.

### **3. Tratamiento farmacológico**

Los fármacos mayormente utilizados para tratar la depresión son aquellos cuyo blanco son los sistemas serotoninérgico, noradrenérgico y dopaminérgico. Con base en su mecanismo de acción los antidepresivos se clasifican en: inhibidores de la monoaminoxidasa (iMAOS), antidepresivos tricíclicos (TCAs), inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (ISRN), inhibidores duales de la recaptura de serotonina y noradrenalina (5-HT/NA) y antidepresivos atípicos (Willner y cols, 2013).

#### **3.1 Inhibidores de la monoaminoxidasa**

Estos fármacos inhiben a la enzima monoaminoxidasa, cuya principal función es degradar a la serotonina, noradrenalina y en menor grado dopamina, por medio de la desaminación oxidativa de estos neurotransmisores. Se conocen dos tipos principales de enzimas monoaminoxidasas, la MAO-A, cuyos sustratos principales son la serotonina, noradrenalina y adrenalina, y la MAO-B que degrada moléculas como la tiramina, feniletilamina, feniletanolamina y benzilamina. Ambos subtipos de MAO son capaces de desaminar a la dopamina, tiramina y triptamina (Hillhouse & Porter, 2016).

Los iMAOS pueden clasificarse con base en su estructura química (hidracinas o no hidracinas), mecanismo de acción (reversibles o irreversibles) y a su selectividad por las isoenzimas MAO-A o MAO-B (tabla 1). Actualmente, la prescripción de estos fármacos como antidepresivos es prácticamente nula debido a que producen efectos adversos como la agitación, convulsiones, sudoración, hiperventilación, movimientos anormales, rigidez muscular, taquicardia, hipertensión arterial, entre otros (Hillhouse & Porter, 2016).

Tabla 1. Fármacos inhibidores de la enzima monoaminooxidasa utilizados como antidepresivos.

Modificado de Youdim y cols, 2006.

Fármaco	Selectividad (MAO-A o MAO-B)	Tipo de inhibición
<b>Isocarboxazida</b>	A y B	Irreversible
<b>Fenelzina</b>	A y B	Irreversible
<b>Ladostigil</b>	A y B	Irreversible
<b>Moclobemida</b>	A	Reversible
<b>Brofaromina</b>	A	Reversible
<b>Befloxatona</b>	A	Reversible
<b>Lazabemida</b>	B	Reversible

### 3.2 Antidepresivos tricíclicos

Los antidepresivos tricíclicos representan una de las primeras clases de fármacos que fueron utilizados para el tratamiento de la depresión. Este tipo de fármacos reciben este nombre debido a que están conformados por dos anillos bencénicos laterales y un anillo central variable (Goodman & Gilman, 2013).

Los TCA actúan preferentemente inhibiendo la recaptura de serotonina y noradrenalina, dependiendo de su estructura química, estos pueden inhibir en menor o mayor grado a uno u otro neurotransmisor (tabla 2). Ejemplo de ello es la desipramina, la cual actúa inhibiendo la recaptura de noradrenalina y en menor grado de serotonina, alcanza una concentración plasmática máxima entre las primeras 4 a 8 horas después de su administración, su tiempo de vida media es de 12 a 28 horas y presenta un gran porcentaje de unión a proteínas ( $\approx 90\%$ ), se metaboliza por vía hepática (Tolosa y cols., 2002).

Sin embargo, en la actualidad estos fármacos no se utilizan como terapia de primera elección debido a la gran cantidad de efectos secundarios que presentan, tales como visión borrosa, sedación, boca seca, taquicardia, estreñimiento, hipotensión ortostática etc. (Ciraulo & Shader,

2011). Actualmente, son utilizados como antidepresivos sólo cuando otras terapias farmacológicas no han mostrado resultados.

*Tabla 2. Ejemplos de antidepresivos tricíclicos. Modificado de Goodman & Gilman, 2013*

Fármaco	Tipo de sustituyente	Sistema de recaptura de preferentemente inhibido
<b>Desipramina</b>	Amina secundaria	NA
<b>Amoxapina</b>	Amina secundaria	NA
<b>Nortriptilina</b>	Amina secundaria	NA
<b>Imipramina</b>	Amina terciaria	NA, 5-HT
<b>Amitriptilina</b>	Amina terciaria	NA, 5-HT

### 3.3 Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS)

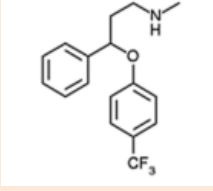
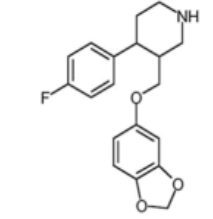
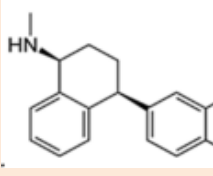
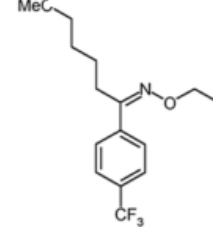
Los ISRS a pesar de las diferencias que puedan presentar en su estructura química, inhiben preferentemente a la proteína SERT la cual se encarga de la recaptura de la serotonina que fue liberada al espacio sináptico para que ésta pueda ser reutilizada. Sin embargo la afinidad por el transportador puede variar entre cada molécula (tabla 3) (Ciraulo & Shader, 2011) .

Este tipo de antidepresivos son ampliamente utilizados en la actualidad debido a que producen una menor cantidad de efectos secundarios en comparación con los iMAOs o los TCAs (Hillhouse & Porter, 2016).

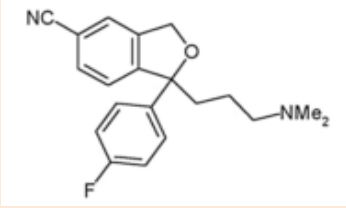
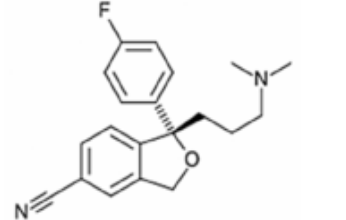
Entre los ISRS mayormente utilizados en la clínica encontramos a la sertralina la cual inhibe débilmente la recaptura de noradrenalina por lo cual es más selectivo por el transportador de serotonina en comparación con otros ISRS. La absorción de sertralina es lenta alcanzando su concentración plasmática máxima entre 6-8 horas después de ser ingerida, su tiempo de vida media es de 24 horas lo que permite que su administración sea sólo una vez al día , en cuanto a su biodisponibilidad esta alcanza hasta un 88 % y se metaboliza por vía hepática (Carreto, 2002).

Sin embargo, todos los antidepresivos anteriormente explicados presentan el inconveniente de que los pacientes presentan una mejoría clínica hasta 3 o 4 semanas después de haber iniciado el tratamiento, y más del 50 % de los individuos tratados con antidepresivos clásicos son resistentes al tratamiento (Machado-Vieira, y cols., 2017). Por ello, es importante la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos que permitan la mejoría de los pacientes en un menor tiempo, y que además presente un menor porcentaje de pacientes resistentes al tratamiento.

*Tabla 3 Fármacos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina. Modificado de De León y cols., 2008.*

Fármaco	Estructura química	Selectividad por SERT (valores de $pK_i$ )
<b>Fluoxetina</b>		8.5
<b>Paroxetina</b>		9.6
<b>Sertralina</b>		9.1
<b>Fluvoxamina</b>		8.2



<b>Citalopram</b>		8.4
<b>Escitalopram</b>		8.8

## 4. Glutamato y Depresión

### 4.1 El sistema Glutamatérgico

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador en el sistema nervioso, desempeña un papel muy importante en el desarrollo cerebral, axogénesis y en la supervivencia neuronal, sin embargo, en situaciones patológicas el glutamato tiene acción excitotóxica provocando un rápido daño neuronal (Chalikiopoulos, 2013).

Una sinapsis glutamatérgica está constituida por una neurona presináptica, una neurona postsináptica y un astrocito (Figura 5). Cuando llega un potencial de acción a la neurona presináptica se estimula la liberación de glutamato. El glutamato se une a sus respectivos receptores presentes tanto en la neurona presináptica como en la neurona postsináptica, así como también en los receptores glutamatérgicos presentes en los astrocitos. El glutamato liberado es recapturado a través del transportador de aminoácidos excitadores del tipo 2 (EAAT2) presente en los astrocitos. Dentro del astrocito el glutamato es convertido a glutamina por la acción de la enzima glutamina sintetasa, posteriormente la glutamina es transportada de nuevo a la neurona presináptica en donde es hidrolizada por la glutaminasa para producir glutamato, proceso conocido como el ciclo glutamato/glutamina (Hillhouse & Porter, 2016; Sanacora y cols., 2008).

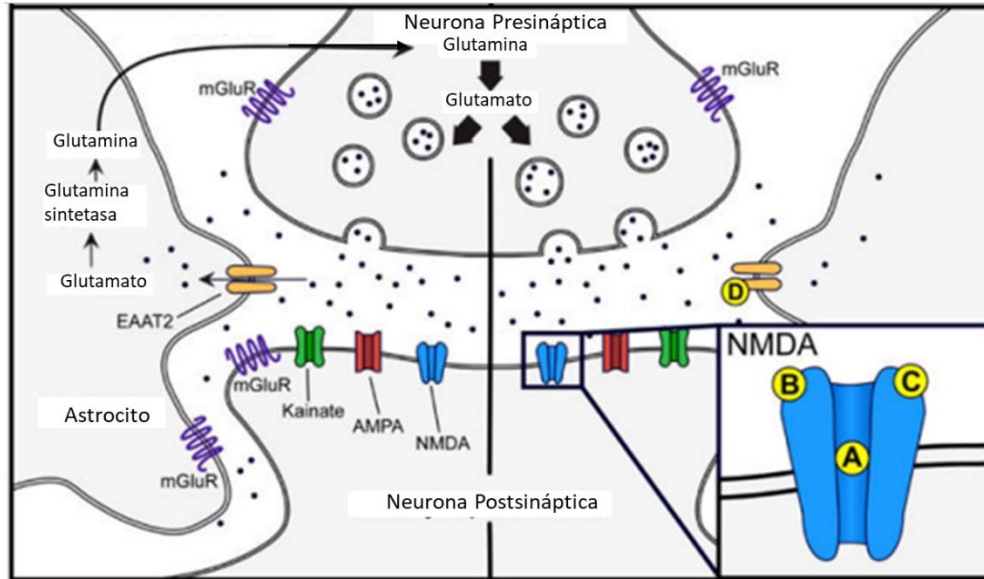


Figura 5. Neurotransmisión Glutamatergica. Panel izquierdo: La neurona presináptica libera glutamato en respuesta a un potencial de acción. El glutamato puede unirse a receptores ionotrópicos (NMDA, AMPA o Kainato) o metabotrópicos (mGluR) localizados a nivel pre o postsináptico, así como a los receptores glutamatergicos presentes en los astrocitos. El glutamato es recapturado por el transportador EAAT2 localizado en el astrocito. Dentro del astrocito el glutamato es transformado a glutamina y posteriormente es reingresada a la neurona presináptica para ser convertido nuevamente a glutamato. Modificado de Hillhouse & Porter, 2016.

## 4.2 Receptores a glutamato

Los receptores a glutamato son complejos protéicos transmembranales formados por distintas subunidades (figura 6), que se clasifican en dos grupos: los receptores metabotrópicos (mGluRs 1-8) y los ionotrópicos (NMDA, AMPA y Kainato) (Deutschenbaaur y cols., 2016; Hillhouse & Porter, 2016).

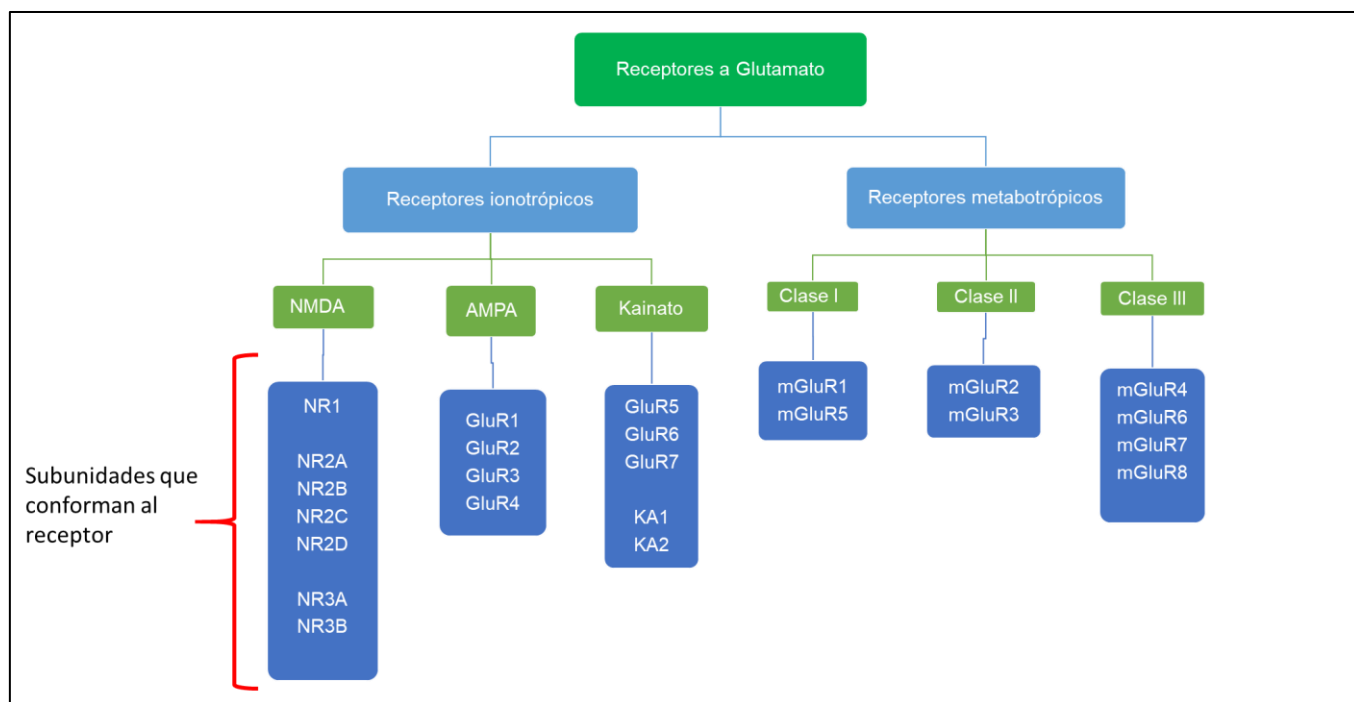


Figura 6 Clasificación de los receptores a glutamato y subunidades que los conforman. Modificado de Flores-Soto et al., 2012.

Los receptores a glutamato del tipo metabotrópicos basados en su homología y función se dividen en tres grupos. El grupo I incluye a los mGluR1 y mGluR5 que se encuentran acoplados a proteínas  $G_q/G_{11}$  y se localizan en la neurona postsináptica, mientras que el Grupo II (mGluR2 y mGluR3) y Grupo III (mGluR4, mGluR6, mGluR7 y mGluR8) se encuentran en las neuronas presinápticas y están acoplados a proteínas  $G_i/G_o$ . (Hillhouse & Porter, 2016; Sanacora y cols., 2008).

Los receptores ionotrópicos actúan como canales iónicos permitiendo el flujo de iones dentro y fuera de la célula, existen 3 tipos de receptores ionotrópicos, los receptores de tipo Kainato, los receptores  $\alpha$ - amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propionato (AMPA) y receptores para N-metil-D-aspartato (NMDA), llamados así debido a sus agonistas específicos (Sanacora y cols., 2008).

Los receptores AMPA (ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol), median respuestas excitadoras rápidas que permiten la entrada de  $Na^+$  a la neurona que provoca una rápida despolarización de la membrana. Son responsables de la respuesta inicial a glutamato y se

encuentran generalmente coexpresados con los receptores NMDA (Sanacora y cols., 2008; Flores-Soto y cols, 2012).

### 4.3 Receptor NMDA

El receptor NMDA presenta algunas características particulares que facilitan su apertura para permitir el flujo de iones al interior de la célula. En primer lugar, requiere la unión del aminoácido glicina además de la unión del glutamato para realizar su función. Como segunda característica el canal iónico se encuentra bloqueado por un ion  $Mg^{+2}$ , por lo que se requiere la activación del receptor AMPA, el cual genera una despolarización rápida, permitiendo que el receptor NMDA se desbloquee parcialmente y de este modo el ion  $Ca^{+2}$  pueda ingresar a la neurona, por ultimo presenta distintos sitios de unión específicos para algunas sustancias exógenas como la ketamina o la fenciclidina, las cuales se unen dentro del canal iónico (Fig. 7) (Ganong,2013).

Actualmente este receptor se postula como un posible blanco terapéutico para el desarrollo de fármacos que ayuden al tratamiento de diversos trastornos psiquiátricos, como la depresión.

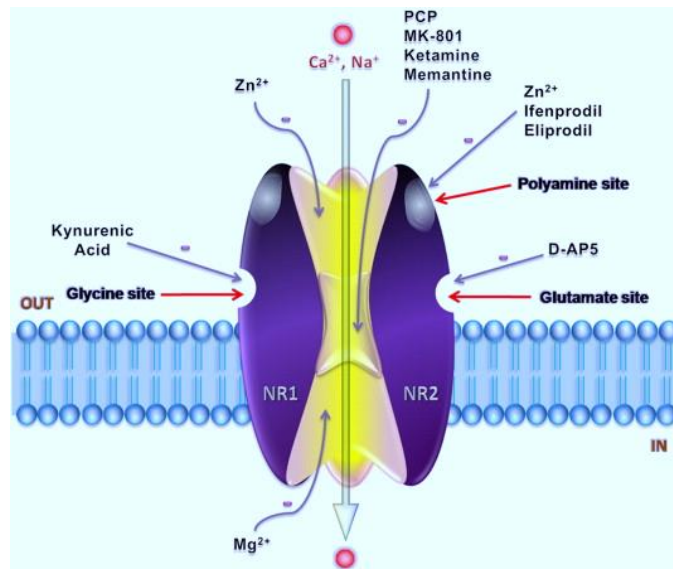


Figura 7 Estructura del receptor NMDA

#### **4.4 Sistema Glutamatérgico y depresión**

Recientemente se ha reconocido a la neurotransmisión glutamatérgica como un elemento clave en la fisiopatología y tratamiento de los trastornos psiquiátricos como la depresión (Mlyniec, 2015).

En el año de 1995 el grupo Nowak encontró diferencias alostéricas en el sitio de unión para glicina en el receptor NMDA en la corteza prefrontal de pacientes que cometieron suicidio, sugiriendo que en pacientes que sufren depresión puede haber alteraciones selectivas en el sitio de reconocimiento para glicina afectando así la neurotransmisión glutamatérgica (Nowak y cols., 1995).

En pacientes con depresión se ha observado que los niveles de glutamato en el líquido cefalorraquídeo y en plasma se encuentran considerablemente elevados en comparación con sujetos sanos (Altamura, y cols., 1995; Mauri y cols., 1998; Mitani y cols., 2006). Por lo que Mitani y cols. en 2006 propusieron que existe una correlación positiva entre el nivel de glutamato en sangre y la intensidad de los síntomas depresivos en pacientes con esta enfermedad.

#### **4.5 Fármacos antidepresivos y su acción sobre el receptor NMDA**

Se ha observado que los receptores NMDA posiblemente están involucrados en el mecanismo de acción de algunos fármacos antidepresivos. Por ejemplo, en el estudio realizado *in vitro* por Sills y Loo en 1989 se encontró que los antidepresivos tricíclicos interactúan con el receptor NMDA y bloquean sus acciones. De acuerdo a este estudio, la imipramina y la desipramina actúan de manera similar al zinc, retardando la tasa de disociación del MK-801, inhibiendo como consecuencia la unión de glutamato a este receptor, evitando el daño neuronal inducido por el aumento de calcio intracelular.

Años más tarde, el grupo de Barygin en 2017 observó que diferentes fármacos antidepresivos tenían la capacidad de influir sobre la actividad del receptor NMDA *in vitro*. En este estudio encontraron que desipramina, un inhibidor de la recaptura de noradrenalina tenía la capacidad de inhibir al receptor NMDA utilizando concentraciones micromolares del fármaco.

Adicionalmente se observó que este mecanismo de bloqueo de la apertura del canal iónico del receptor NMDA es dependiente de voltaje y de magnesio. Por otra parte, se observó que el

fármaco inhibidor de la recaptura de serotonina, fluoxetina bloquea el canal por un mecanismo independiente de voltaje y de magnesio. Ambos antidepresivos inhibieron la permeabilidad a calcio del receptor AMPA, lo que también puede influir sobre el efecto observado en los receptores NMDA (Barygin y cols., 2017).

En conjunto, estas evidencias indican que el bloqueo del receptor NMDA podría estar involucrado en los efectos farmacológicos de algunos antidepresivos.

A principios del año 2000 Berman y cols. y Zarate y cols. en 2006 realizaron estudios clínicos utilizando el antagonista del receptor NMDA, ketamina de forma aguda y en bajas dosis como fármaco antidepresivo, encontrando que los pacientes experimentaban una rápida remisión de los síntomas después del tratamiento, e incluso observaron efecto en aquellos pacientes que presentaban resistencia al tratamiento con antidepresivos convencionales.

Pese a estas evidencias, es necesario realizar más estudios para evaluar si los efectos de ketamina y otros antagonistas NMDA, solos o en combinación con antidepresivos son persistentes, así como para conocer los posibles efectos secundarios que podrían presentarse a largo plazo.

#### **4.6 Dizocilpina (MK-801) como fármaco antidepresivo**

El MK-801 o dizocilpina es un antagonista no competitivo del receptor NMDA que se une a la subunidad NR2 del receptor, bloqueando el poro del canal iónico, impidiendo el flujo de iones al interior de la célula. Este fármaco presenta propiedades anestésicas y anticonvulsivantes. Por otro lado, el MK-801 puede inducir un complejo síndrome motor caracterizado por hiperlocomoción, ataxia, así como un incremento en los movimientos estereotipados cuando se administra en dosis superiores a 0.1 mg/kg (Maj y cols., 1991; Kovacic & Somanathan, 2010) (fig. 8).

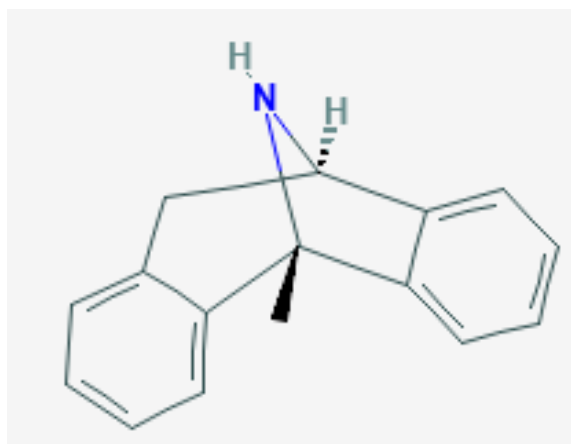


Figure 8 Estructura química de dizocilpina o MK-801. Tomada de pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

Diversos investigadores han relacionado estos efectos motores con la interacción del sistema glutamatérgico con otros sistemas de neurotransmisión, tales como el dopaminérgico y el serotoninérgico (Carlsson y Carlsson, 1990; Ormandy y cols. 1990, Ramoa, y cols., 1990; Löscher y cols., 1991).

En estudios realizados *in vitro* en rebanadas de cerebro se ha observado que el MK-801 retarda la recaptura de noradrenalina y serotonina en el locus coeruleus y en el núcleo dorsal del rafe, mientras que no afecta la recaptura de dopamina en el núcleo accumbens (Callado y cols., 1999). Este grupo también encontró que el MK-801 aumenta significativamente la liberación de noradrenalina y serotonina en el locus coeruleus y en el núcleo dorsal del rafe, sin embargo, no se encontraron cambios en la liberación de dopamina en el núcleo accumbens.

En contraste, en estudios *in vivo* con ratas en libre movimiento, Yan y cols en 1997, encontraron que la administración de distintas dosis (5, 50 y 250  $\mu\text{M}$ ) en el núcleo accumbens de MK-801 aumenta las concentraciones extracelulares de serotonina, dopamina y noradrenalina de manera concentración dependiente, efecto que también se observó al administrar de manera sistémica el fármaco (0.3 mg/kg vía i.p.).

Algunos años antes, se reportaron propiedades antidepresivas del MK-801, el cual al ser administrado en ratas de manera aguda reducía el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado y adicionalmente potenciaba los efectos de antidepresivos como citalopram, imipramina y mianserina (Maj y cols., 1992).

A pesar de que existen algunos trabajos en los que se ha evaluado el efecto antidepresivo de MK-801 utilizando distintas especies y paradigmas (tabla 4), aún no se ha evaluado su efecto antidepresivo al ser administrado de manera subcrónica y aguda a una cepa propensa a presentar conductas tipo depresión e hiperreactiva al estrés. Además, es importante evaluar si el MK-801 mejora el efecto antidepresivo de los fármacos convencionales, logrando que se presenten estos efectos antidepresivos en menor tiempo con dosis subóptimas de ambos fármacos, y de esta manera, además, reducir los efectos secundarios que pudieran observarse.

*Tabla 4* Evaluación del efecto antidepresivo de MK-801 en distintas especies.

Título del Artículo	Paradigma/Especie	Efecto antidepresivo	Referencia
<b>Investigation of antidepressant-like and anxiolytic-like actions and cognitive and motor side effects of four N-methyl-D-aspartate receptor antagonists in mice</b>	Ratones hembra cepa NMRI. Nado forzado	+++ (↑ nado)	(Refsgaard, y cols., 2017)
<b>The influence of dizocilpine on the reserpine-induced behavioral and neurobiological changes in rats</b>	Ratas macho cepa Sprague-Dawley. Nado forzado	+++ (revierte los efectos de reserpina)	(Gao, y cols., 2016)
<b>Antidepressant Effects of (+)-MK-801 and (-)-MK-801 in the Social Defeat Stress Model</b>	Ratones Cepa C57BL/6 Suspensión de la cola Nado forzado Preferencia de sacarosa	+++ +++ ++	(Yang, y cols., 2016)



## 5. Estrés y depresión

### 5.1 Respuesta al estrés

El estrés puede ser definido como cualquier amenaza contra la homeostasis del individuo para la cual se requiere que el organismo monte una respuesta que le permita adaptarse a este cambio. La respuesta al estrés se encuentra conformada por: el estresor que puede definirse como un cambio en el ambiente que es censado por el organismo provocando una respuesta aguda o crónica, según se requiera. Ésta respuesta es integrada por componentes fisiológicos, conductuales, cognitivos y emocionales, con la finalidad de restaurar la homeostasis del individuo (Steckler y cols., 2005).

Cuando el individuo se encuentra ante una situación adversa, el organismo responde mediante la activación de diversos sistemas entre los que se encuentra el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) , con el objetivo de sintetizar y liberar cortisol en humanos o corticosterona en roedores (también conocidas como hormonas del estrés) desde la corteza adrenal (Lupien y cols., 2009).

El cortisol y la corticosterona, en condiciones basales, son esenciales para el adecuado funcionamiento del organismo ya que regulan numerosos procesos como el metabolismo de la glucosa y las grasas, la presión sanguínea, la respuesta inflamatoria e inmune y además permite al organismo adaptarse a los cambios ambientales (Katzung, 2012).

Ante un estresor, el organismo responde con el aumento en la liberación de glucocorticoides; lo que genera cambios fisiológicos, como el aumento en el aporte de glucosa hacia el músculo esquelético, un incremento en la respuesta inmune, la disminución en la sensibilidad ante el dolor, etc., que preparan al individuo para montar una respuesta de lucha o huida (Steckler y cols., 2005)

La respuesta ante el estrés concluye por un proceso de retroalimentación negativa en donde el cortisol (o corticosterona) inhibe su propia liberación. A nivel hipotalámico disminuye la liberación de hormona liberadora de corticotropina (CRH) y a nivel hipofisiario reduce la

liberación de hormona adrenocorticotrofica (ACTH). Sin embargo, en situaciones patológicas puede existir una desregulación en el eje HHA que impide el correcto funcionamiento del sistema de retroalimentación negativa, provocando que existan elevados niveles de corticosteroides en el organismo de forma crónica (Staufenbiel y cols., 2013).

Adicionalmente, la respuesta al estrés involucra la interacción e integración de la información en áreas cerebrales, tales como la corteza prefrontal, amígdala, hipocampo, núcleo accumbens e hipotálamo (fig.9), lo que conlleva la comunicación constante entre las áreas cerebrales anteriormente mencionadas y el organismo por medio de los glucocorticoides (Mora y cols., 2012).

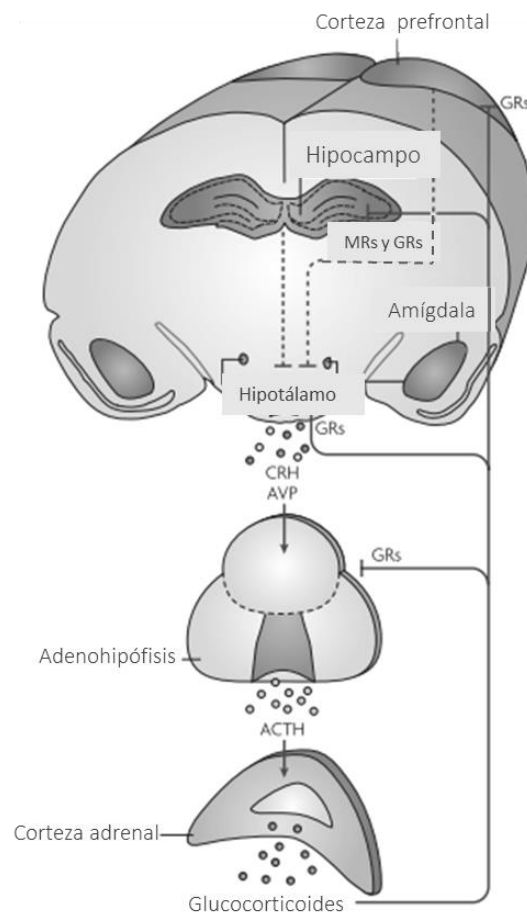


Figura 9 Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. Modificado de Lupien y cols., 2009

## 5.2 Evidencias de la relación de estrés y depresión

El estrés y la depresión se encuentran frecuentemente relacionados. De hecho, la exposición a eventos estresantes en diferentes etapas de la vida puede contribuir a la aparición de episodios depresivos en individuos susceptibles, por ejemplo, los individuos que durante la niñez sufren algún tipo de abuso, como abuso sexual, bullying, violencia intrafamiliar, etc., tienen un mayor riesgo de padecer depresión durante la adultez (Kendler y cols., 1999; Heim y cols., 2012).

En las últimas décadas se han encontrado anormalidades en el eje HHA en pacientes deprimidos, de hecho se ha reportado que alrededor del 50% de los pacientes con depresión presentan una activación excesiva del eje HHA (Jeon & Kim, 2016; Dean, 2017). Por ejemplo, en el estudio clínico realizado por Pruessner, y cols, 2003, se observó que los pacientes con depresión presentaban niveles elevados de cortisol en saliva, los cuales se correlacionaban con la gravedad de los síntomas. Además, se ha observado hipersecreción de CRH en el núcleo paraventricular del hipotálamo, provocando una disfunción en el mecanismo de retroalimentación negativa del eje HHA, así como hipertrofia e hiperfuncionalidad de la hipófisis y de las glándulas adrenales (Dean, 2017; Ferrari & Villa, 2017).

En modelos animales se ha observado que el estrés crónico induce la generación de conductas tipo depresión, tales como disminución en la ingesta de sacarosa (anhedonia), disminución de la motivación, reducción de la conducta de acicalamiento y cambios en el patrón de sueño (Dean, 2017).

Uno de los posibles mecanismos que se ha propuesto para explicar la relación entre niveles elevados de cortisol y la depresión ha sido que en ambas condiciones se afectan áreas cerebrales como la corteza prefrontal media (mPCF), el hipocampo y la amígdala (Duman, 2014). Por ejemplo, a consecuencia del estrés crónico se ha observado que disminuye los complejos dendríticos en las neuronas piramidales del hipocampo e incrementando la actividad de las interneuronas GABAérgicas en la mPFC, disminuyendo la actividad neuronal del hipocampo (Duman, 2014). Adicionalmente, el estrés también induce atrofia en las neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo y en las capas II, III y V de la PFC, estructuras que se encargan de inhibir al eje HHA y a la amígdala (McEwen, 2012). Esta reducción en los

complejos dendríticos y en las conexiones sinápticas, podrían contribuir a la pérdida del control de las emociones y el estado de ánimo que se observan en la depresión (Duman, 2014).

### **5.3 Estrés y glutamato**

Son pocos los estudios que han analizado la participación del glutamato en la regulación del estrés. Por ejemplo, en 1995 se reportó que el glutamato, actuando a través de receptores NMDA, modula la respuesta del estrés directamente en el hipocampo y en el hipotálamo (Bartanusz y cols., 1995). Posteriormente, Singwald y cols 1996 realizaron un estudio in vivo en el que observaron que la CRH facilitaba la liberación de aspartato y glutamato en el locus coeruleus. Además, se ha descrito que los glucocorticoides inducen la liberación de glutamato en las neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo (Singewald y cols., 1996).

De manera inversa, se ha observado que al administrar glutamato directamente en la amígdala se estimulan de los receptores NMDA presentes en neuronas CRHérgicas, induce el aumento en la liberación de CRH, así como también un aumento en los niveles plasmáticos de corticosterona de manera dosis dependiente (Mathew y cols., 2001).

En cambio, si el glutamato es administrado de manera local en el núcleo paraventricular del hipotálamo se estimula la liberación de CRH desde la eminencia media y como consecuencia aumentan los niveles de ACTH y de corticosterona en sangre (Mathew y cols., 2001).

Sin embargo, se ha descrito que niveles elevados de cortisol en conjunto con “descargas” rápidas de glutamato (las cuales se originan desde la corteza prefrontal) podrían contribuir al daño y muerte celular hipocampal observados bajo estrés (Mathew y cols., 2001;Gold y cols., 2014).

Dado que el estrés participa en la inducción de la depresión y se ha reportado que el receptor NMDA puede participar en la regulación del estrés, es posible que el antagonista NMDA, MK-801 induzca sus efectos antidepresivos por una modulación en la respuesta al estrés.

## 6. Modelos animales de depresión.

Debido a la complejidad de los síntomas que se presentan en esta patología el desarrollar un modelo animal que mimetice completamente la enfermedad continúa siendo un enorme desafío, principalmente porque muchos de estos síntomas son de carácter subjetivo o emocional, sin embargo, se han desarrollado modelos animales en los cuales se intenta representar ya sea el componente emocional o las disfunciones fisiológicas subyacentes a este trastorno (tabla 5) (Grigor & Gulyaeva, 2017).

*Tabla 5 Modelos de depresión basados principalmente en las modificaciones de los mecanismos cerebrales que regulan las emociones y la motivación. Modificado de Grigor & Gulyaeva, 2017.*

Tipo de Modelo	Prueba/ Modificación	Conducta evaluada	Cambios neuroquímicos	Referencia
<b>Desesperanza</b>	Nado forzado	Inmovilidad	-----	Porsolt, 1977
	Suspensión de la cola	Inmovilidad		Steru y cols., 1985
	Desesperanza aprendida	Retardo en la conducta de escape/ reflejo de evitamiento		
<b>Modelos genéticos</b>	Ratón knockout para el transportador de 5-HT	Reducción del tiempo de inmovilidad	Aumento de 5-HT en el lóbulo frontal. Aumento de la neurogénesis, aumento en la expresión de BDNF en el hipocampo	Holmes y cols., 2002; Ferres-Coy y cols., 2013

	Raton knockout para el transportador de NA y 5-HT		Ausencia de la función del transportador de NA	Xu y cols., 2000 Ferres-Coy y cols., 2013
<b>Déficit de emociones positivas (anhedonia)</b>	Consumo de sacarosa	Disminución	-----	Nielsen y cols., 2000
	Condicionamiento del lugar de preferencia	Abolición		Papp y cols., 1991
	Autoestimulación	Abolición		Esumi y cols., 2013
<b>Exacerbación de emociones negativas</b> <b>Estrés prenatal</b>	Alteraciones inmunes debido a la exposición virus, lipopolisacárido bacteriano, etc.	Aumento de la conducta tipo ansiedad	Reducción en los niveles de 5-HT. Aumento de la secreción de citocinas proinflamatorias, reducción de la neurogénesis	Entringer y cols., 2008; Romero y cols., 2007
<b>Estrés postnatal</b>	Separación materna	Reducción del consumo de sacarosa, aumento de las conductas tipo ansiedad, miedo	Aumento de los niveles de citocinas proinflamatorias y CFR	Hennessy y cols., 2010
	Aislamiento social	-----	Aumento de los niveles séricos de	Pournajafi - Nazarloo y cols., 2011

			ACTH y corticosterona	
	Estrés crónico impredecible	Reducción del consumo de sacarosa	Aumento de los niveles de corticosterona	Willner, 1997

### 6.1 Criterios de validación para los modelos animales de trastornos psiquiátricos

Para que estos modelos sean considerados útiles en el estudio de los trastornos psiquiátricos deben cumplir con distintos criterios de validación (McGonigle, 2014).

- Validez de apariencia: este criterio se refiere al grado en el que el modelo animal refleja la sintomatología del trastorno que se desea modelar.
- Validez de constructo: indica que tanto el modelo permite evaluar determinada variable relacionada con el trastorno.
- Validez predictiva: indica que los fármacos utilizados para el tratamiento del trastorno evaluado en humanos, deben ser efectivos en el modelo animal.
- Validez de homología: evalúa si el modelo está considerando todos los factores del trastorno que se pretende modelar.

### 6.2 Prueba de nado forzado

La prueba de nado forzado fue propuesta por Porsolt y cols en 1978. Estudia la conducta de roedores (ratas o ratones) al ser forzados a nadar durante un tiempo determinado en un espacio restringido del cual no hay escapatoria. Inicialmente, los animales intentan escapar realizando movimientos vigorosos, pasados algunos minutos el animal adopta una postura de inmovilidad, que se caracteriza por que el animal realiza únicamente los movimientos necesarios para mantener su cabeza fuera del agua (Andrey & Jaime, 2009). Se considera que cuando el animal adopta la conducta de inmovilidad ha aprendido que es imposible escapar, y ha desarrollado la conducta de desesperanza (conducta tipo depresión). En este modelo se ha observado que la administración de fármacos antidepresivos, reducen la conducta de inmovilidad e incrementar

las conductas activas (nado y escalamiento) (Detke y cols., 1995), razón por la cual actualmente es uno de los paradigmas más utilizados para evaluar fármacos antidepresivos.

Incluso, de acuerdo con lo reportado por Detke & Lucki, 1996 esta prueba permite inferir el mecanismo de acción de los fármacos, ya que estos autores observaron que aquellos fármacos cuyo blanco es el sistema serotoninérgico, como los ISRS, reducen la conducta de inmovilidad a costa de un aumento en la conducta de nado, mientras que los fármacos que aumentan la neurotransmisión noradrenérgica o dopaminérgica reducen la inmovilidad de los animales incrementando la conducta de escalamiento (Detke & Lucki, 1996; McGonigle, 2014).

Sin embargo, como ya se mencionó la prueba de nado forzado sólo nos permite suponer el mecanismo de acción de un fármaco antidepresivo, para determinar el sistema de neurotransmisión involucrado en el efecto antidepresivo de un fármaco, se pueden utilizar herramientas farmacológicas como por ejemplo las neurotóxicas.

## **7 Neurotoxinas.**

Las neurotóxicas son utilizadas en la investigación para elucidar el papel de un determinado sistema de neurotransmisión en el estudio de diversas patologías. Estos compuestos pueden ser de origen natural o sintético. Se caracterizan por su capacidad de causar disfunciones en el sistema nervioso central o periférico (Levine, 2018) dado que pueden dañar a las neuronas, a los axones, y/o a la glía provocando la destrucción de núcleos específicos y/o tractos axonales e incluso desmielinización de las neuronas (Salceda, 2009; Holloman, 2018).

Se han sintetizado compuestos neurotóxicos que dañan específicamente a un sistema de neurotransmisión, por ejemplo, la neurotóxina 6- hidroxidopamina (6-OHDA) que daña selectivamente a las neuronas dopaminérgicas, el DSP4 que daña a las neuronas noradrenérgicas o el PCPA que afecta a la neurotransmisión serotoninérgica, entre otras (Dringenberg, y cols., 1995; Hernandez-Baltazar, y cols., 2017; Ross y cols., 2015).

La p-clorofenilalanina o PCPA (fig. 10) es un fármaco que inhibe de manera irreversible a la enzima triptófano hidroxilasa, la cual es determinante para la síntesis de serotonina a partir del aminoácido L-triptófano. El PCPA depleta de manera selectiva los niveles de 5-HT en ratones, ratas y perros. Además, tiene la capacidad de reducir los niveles de ácido 5-hidroxi-3-



indolilacético en el cerebro (5HIAA), el cual es compuesto intermediario del metabolismo de serotonina. También puede reducir los niveles de 5-HT a nivel periférico. (Koe & Weissman, 1966).

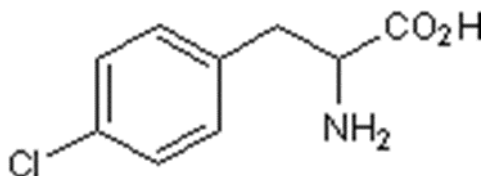


Figure 10 Estructura química del PCPA. Modificado de [www.tocris.com](http://www.tocris.com)

En estudios preclínicos, el PCPA se utiliza para depletar las concentraciones de 5-HT (Koe y Weissman, 1966; Jequier et al., 1967) en un rango de dosis de 150 a 400 mg/kg (Dringenberg y cols. 1995).

Con la administración de PCPA se observa una reducción significativa de los niveles de 5-HT durante aproximadamente 2 semanas, presentándose el efecto máximo a los 2 o 3 días después del inicio del tratamiento (aproximadamente 80 al 90 % de reducción) (Aghajanian et al., 1973; Vergnes et al., 1986).

Otra neurotóxina utilizada en como herramienta farmacológica es el N-(2-Cloroetil)-N-etil-2-bromobenzilamina o DSP4 (Fig. 11), la cual es parcialmente selectiva por las neuronas noradrenérgicas del *locus coeruleus* de roedores y aves. La finalidad del desarrollo de este compuesto, fue obtener una amina ternaria que pudieran atravesar la barrera hematoencefálica y que dentro del cerebro pudieran ser transformadas en una amina cuaternaria capaz de bloquear la liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas. (Ross y cols. 1973)

El DSP4 dentro del cerebro es transformado a un derivado de aziridinio que se acumula en las terminales noradrenérgicas a través del transportador de noradrenalina (NET) que también es inhibido de manera irreversible. Dentro de las terminales nerviosas, el derivado de aziridinio reacciona con componentes celulares desconocidos, destruyendo los terminales noradrenérgicas (Ross y cols, 2015).

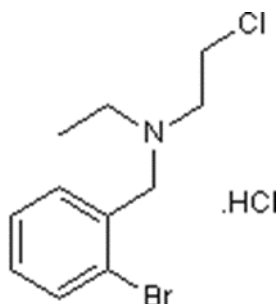


Figura 11 Estructura química del DSP4. Modificado de [www.tocris.com](http://www.tocris.com)

En ratones adultos, ratas y aves, el compuesto generalmente se inyecta por vía intraperitoneal, puesto que se ha observado que por esta vía se alcanza una mayor depleción de los niveles de noradrenalina (Ross y cols., 1973; Ross & Rényi, 1976). El DSP4 provoca la depleción de las concentraciones de noradrenalina de manera dosis dependiente (10, 20, 50 y 100 mg/kg reducen en un 51%, 73%, 100% y 100%, respectivamente), sin efectos significativos sobre la dopamina y las concentraciones de 5-HT (Cheetham y cols.1996).

Sin embargo, el DSP4 provoca una reducción del 20 al 40% de los niveles de 5-HT, razón por la cual es necesario administrar previamente un inhibidor de la recaptura de serotonina, con la finalidad de proteger las neuronas serotoninérgicas de los efectos inducidos por DSP4 (Jonsson y cols., 1981; Heal y cols.,1993).

En relación con dopamina, la afinidad de DSP4 y su ion aziridinio por el transportador de dopamina es probablemente demasiado baja para permitir la captación activa en los terminales dopaminérgicas *in vivo* (Wenge y Bönisch 2009). En algunos estudios se ha demostrado que DSP4 a una dosis de 100 mg/kg administrado por vía intraperitoneal no reduce los niveles de dopamina en el cerebro de ratas y ratones (Jonsson y cols., 1981; Logue y cols., 1985), por lo que no es necesario proteger a las neuronas dopaminérgicas previo a la administración de DSP4.

## 8 Cepa Wistar Kyoto, un modelo endógeno para el estudio de depresión.

La cepa Wistar Kyoto (WKY) es considerada como un modelo animal que endógenamente exhibe respuestas conductuales y fisiológicas exageradas al ser sometidas ante situaciones estresantes. Por ejemplo, las ratas de esta cepa presentan conductas tipo depresión como

anhedonia, retardo psicomotor, disfunción en la memoria, etc. Además, estas ratas tienden permanecer inmóviles en situaciones en las que normalmente los roedores presentan una conducta de huida o lucha. Por otro lado, exploran poco en la prueba de campo abierto en comparación con otras cepas, lo cual se asocia con conductas tipo ansiedad (López-Rubalcava & Lucki 2000; Lei y cols. 2009).

En cuanto a las alteraciones fisiológicas, estos animales son susceptibles a desarrollar úlceras gástricas, y tienen una elevada secreción de hormonas relacionadas con el estrés (adrenocorticotrofina o ACTH y corticosterona). Adicionalmente se ha observado que desarrollan más rápidamente la conducta de desesperanza lo que se traduce en niveles más altos de inmovilidad en la prueba de nado forzado en condiciones basales (López-Rubalcava & Lucki, 2000).

En el estudio realizado por Tejani-Butt y cols. en 1994, se evaluaron los cambios conductuales, así como los cambios en los sitios de unión de los receptores beta y  $\alpha_2$  adrenérgicos y en el transportado NET inducidos por un protocolo de estrés crónico de ratas WKY comparadas con ratas Sprague-Dawley, se encontró que el estrés indujo una reducción en los sitios de unión de los receptores y de NET en la corteza, amígdala e hipocampo, lo cual se correlaciona con la exacerbación de las conductas tipo depresión observadas en la cepa WKY. Otros estudios como el Yaroslavsky y cols. en 2006, encontraron que en esta cepa la densidad de receptores para dopamina en áreas del sistema límbico como la amígdala, el hipocampo, el núcleo accumbens, el área tegmental ventral, el caudado putamen y en la corteza motora es menor a lo encontrado en ratas de la cepa Wistar, lo cual podría influir en las disfunciones conductuales y cognitivas observadas en los animales Wistar Kyoto (Lei y cols., 2009).

Con relación a glutamato y receptores NMDA, existen pocos estudios que analicen al sistema glutamatérgico en ratas WKY. En el trabajo de Lei y cols. en 2009 se reportó un menor porcentaje de unión del antagonista [ $^3$ H] MK-801 al receptor NMDA en rebanadas de cerebro en el núcleo accumbens y en la región CA1 del hipocampo, ambas áreas del sistema límbico involucradas con la conducta de motivación y la memoria (Lei y cols., 2009).

Por otro lado, en el año 2012 el grupo de Tizabi encontró que al administrar ketamina (antagonista no competitivo del receptor NMDA) de forma aguda o crónica, se reduce la

conducta de inmovilidad en hembras WKY, sin afectar la actividad locomotora. Adicionalmente, en este trabajo se encontró que el tratamiento crónico con ketamina incrementa el índice de receptores AMPA/NMDA en el hipocampo de los animales lo cual podría contribuir a los efectos terapéuticos observados con la administración de ketamina, puesto que se ha reportado que el efecto antidepresivo de ketamina puede ser bloqueado por antagonistas del receptor AMPA (Maeng y cols., 2008; Koike y cols., 2011), lo que sugiere que se requiere una adecuada relación entre de los receptores AMPA y NMDA para que ketamina pueda ejercer sus efectos (Maeng y cols., 2008) .

Debido a que el sistema glutamatérgico regula los sistemas dopaminérgico y GABAérgico en el sistema límbico es posible que la regulación mediada por el receptor NMDA de estos dos sistemas de neurotransmisión se encuentre comprometida y contribuya a la mayor expresión de conducta tipo depresión observada en la cepa WKY.

## **II. JUSTIFICACION**

Debido a que los antagonistas del receptor NMDA se han propuesto como una alternativa al tratamiento de la depresión, sería importante analizar si este tipo de compuestos tienen el mismo o mejor efecto en una cepa de ratas propensa a presentar conductas tipo depresión y con una alta sensibilidad al estrés. También será interesante estudiar si la combinación de dosis subóptimas de un antidepresivo glutamatérgico y otro antidepresivo clásico presenta un mejor efecto.

### **III. HIPÓTESIS**

Dadas las diferencias existentes entre las cepas a evaluar, el efecto tipo antidepresivo de MK-801 será distinto entre la cepa WKY y la cepa Wistar.

La combinación de dosis subóptimas de MK-801 y sertralina o desipramina también a dosis subóptimas mejorará el efecto tipo antidepresivo de estos fármacos.

La administración de neurotoxinas serotoninérgicas y noradrenérgicas abatirá el efecto antidepresivo de MK-801

#### **IV. OBJETIVO GENERAL**

1. Evaluar el efecto tipo antidepresivo de dizocilpina (MK-801) sola y en combinación con sertralina o desipramina en dos cepas de rata con diferente sensibilidad al estrés las cepas Wistar Kyoto y Wistar.
2. Determinar la participación de los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico en el efecto tipo antidepresivo de MK-801 administrado de manera aguda en ambas cepas.

#### **V. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Comparar el efecto antidepresivo de MK-801 administrado de manera aguda y subcrónica en la cepa Wistar y Wistar Kyoto.
- Determinar la dosis subóptima tanto de sertralina como de desipramina administrados de manera subcrónica.
- Evaluar si el efecto antidepresivo en ambas cepas se ve modificado al combinar un tratamiento subcrónico con dosis subóptimas de MK-801 y desipramina o sertralina.
- Evaluar el efecto tipo antidepresivo de MK-801 en ratas de ambas cepas previamente tratadas con la neurotóxina serotoninérgica PCPA.
- Determinar el efecto tipo antidepresivo de MK-801 en ratas de ambas cepas previamente tratadas con la neurotóxina noradrenérgica DSP4.

## **VI. METODOLOGÍA**

### **1. SUJETOS EXPERIMENTALES**

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar y Wistar Kyoto con una edad de 8 semanas, las cuales se mantuvieron un cuarto con una temperatura de 22- 24 °C con ciclo invertido (12 h luz/12 h oscuridad, la luz se apaga a las 10:00 am) con agua y comida *ad libitum*. Los animales se mantuvieron en cajas de acrílico de 53 cm x43 cm x 19 cm, en las cuales se alojaron de 8 a 10 animales.

Se permitió una semana de adaptación a las condiciones del bioterio antes de iniciar el protocolo experimental.

### **2. FÁRMACOS**

Dizocilpina (MK-801), sertralina y desipramina (DMI) y las neurotóxicas que N-(2-cloroetil)-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP4) y p-clofenilalanina (PCPA) se compraron a Sigma-Aldrich (Toluca, México).

La dizocilpina, sertralina y desipramina se disolvieron en solución salina al 0.9%.

La neurotóxina DSP4 se disolvió en solución salina al 0.9%.

El PCPA se disolvió en una solución de metilcelulosa al 5%.

### **3. PRUEBAS CONDUCTUALES**

#### **3.1 PRUEBA NADO FORZADO**

Para llevar a cabo esta prueba se requiere de un cilindro de 45 cm de altura por 20 cm de diámetro, que contiene agua hasta una altura aproximada de 30 cm con una temperatura de  $22 \pm 2$  °C (Porsolt y cols., 1978). La prueba consiste en dos sesiones, en la primera sesión se realiza la “pre-prueba” donde se coloca al roedor dentro del cilindro con agua, y se le deja nadando durante 15 minutos con la finalidad de que el animal desarrolle la conducta de inmovilidad (considerada como desesperanza conductual).



La segunda sesión (o “prueba”) se lleva a cabo 24 horas después de la pre-prueba. Esta sesión es videograbada para su posterior análisis y tienen un tiempo de duración de 5 minutos.

Al concluir cada sesión, los animales fueron gentilmente secados con una franela y colocados en una caja de acrílico bajo una lámpara para proporcionarles calor aproximadamente durante 30 minutos, una vez que los animales se encontraron completamente secos fueron devueltos a su caja hogar.

### 3.2 ANALISIS CONDUCTUAL

Para el análisis de la prueba conductual se divide el tiempo total de duración de la prueba (5 minutos) en 60 segmentos de 5 segundos cada uno, durante los cuales se registra la conducta presentada en cada uno de los segmentos. Las conductas registradas fueron inmovilidad, escalamiento y nado (fig. 12). Se considera que el animal presenta la conducta de inmovilidad cuando esta realiza los movimientos mínimos para mantenerse a flote o para mantener la cabeza fuera del agua; la conducta de nado se presenta cuando el animal realiza movimientos moderados que le permiten desplazarse alrededor del cilindro, también se considera como conducta de nado cuando el animal se sumerge y bucea; por último se considera como conducta de escalamiento cuando el animal realiza movimientos vigorosos con las patas dentro y fuera del agua generalmente contra las paredes del cilindro.

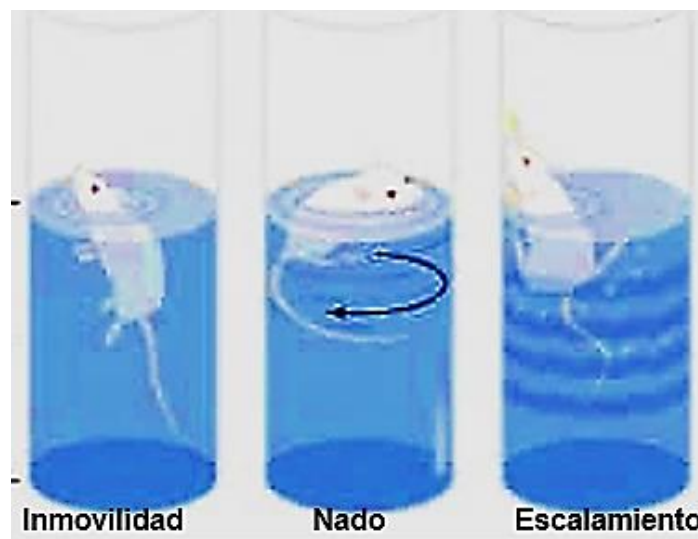


Figura 12 Conductas observadas durante la prueba de nado forzado

### 3.3 PRUEBA DE CAMPO ABIERTO

Esta prueba se realiza con la finalidad de evaluar si los tratamientos farmacológicos inducen cambios en la actividad locomotora de los animales. La prueba se lleva a cabo en una caja de acrílico de 53 cm x 43 cm x 20 cm la cual se encuentra dividida equitativamente en 9 recuadros (fig. 13). El animal se coloca en el centro de la arena y se le permite explorar libremente durante 5 minutos, tiempo durante el cual la actividad es videograbada; posteriormente se analiza la actividad locomotora contando el número de veces que el animal cruza de un recuadro a otro, considerando como un cruce cuando la rata coloca sus cuatro extremidades dentro del recuadro.

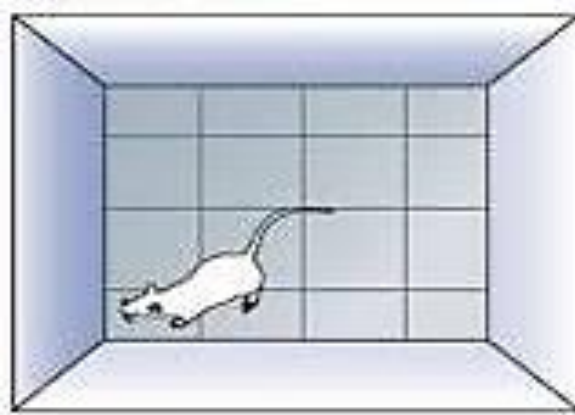


Figura 13 Arena utilizada para la prueba de campo abierto.

## 4 DISEÑO EXPERIMENTAL

### Experimento 1- Efecto del tratamiento agudo de MK-801 en la prueba de nado forzado en ratas de la cepa Wistar y de la cepa WKY.

El primer experimento se llevó a cabo utilizando animales de ambas cepas, las cuales se dividieron en 4 grupos de 8 a 12 individuos, un grupo control que fue administrado con solución salina vía intraperitoneal y los grupos tratados con MK-801 a diferentes dosis (2.5, 5 y 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) por vía intraperitoneal; 30 minutos después de la administración se realizó la prueba de campo abierto e inmediatamente después la prueba de nado forzado.

## **Experimento 2- Efecto del tratamiento subcrónico de MK-801 y de los antidepresivos desipramina y sertralina en la prueba de nado forzado en ratas de la cepa Wistar y de la cepa WKY.**

Para evaluar efecto del tratamiento subcrónico con MK-801, se utilizaron animales de ambas cepas divididos en 3 grupos (n=8 a 12). Cada grupo fue tratado con MK-801 a diferentes dosis (1.25, 2.5 y 5 µg/kg) y un grupo control administrado con vehículo por vía intraperitoneal siguiendo un esquema de administración subcrónico (-24 h, -5 h y -1 h). Una hora después de la última administración se realizó la prueba de campo abierto e inmediatamente después la prueba de nado forzado.

Para la evaluación de desipramina (DMI) se formaron 4 grupos (n= 8 a 12) de cada cepa. Se realizó el esquema de administración subcrónico anteriormente descrito, los grupos tratados fueron administrados con las siguientes dosis: 1.25, 2.5 y 5 mg/kg por vía intraperitoneal. El grupo control recibió con solución salina. Las pruebas conductuales se realizaron 1 hora después de la última administración.

Por último, la sertralina se administró de forma subcrónica (-24 h, -5 h y -1 h) a las dosis de 1.25, 2.5 y 5 mg/kg) para lo cual se formaron 4 grupos de cada cepa, 3 grupos tratados con cada una de las dosis y 1 grupo control administrado con el vehículo (solución salina al 0.9%). Las pruebas conductuales se realizaron 1 hora después de la última administración.

## **Experimento 3 Efecto antidepresivo del tratamiento subcrónico de la combinación de dosis subóptimas de MK-801, desipramina o sertralina en ambas cepas.**

Se formaron 6 grupos independientes de 8 a 12 animales cada uno tanto de la cepa Wistar como de la cepa Wistar Kyoto. En todos los casos las administraciones se realizaron de manera subcrónica. Una hora después de la última administración se realizaron las pruebas conductuales. Los 6 grupos experimentales se describen a continuación:

- Grupo 1- Solución Salina (Vehículo de antidepresivo) + vehículo de MK-801 (salina)
- Grupo 2 – MK-801 (1.25 mg/kg) +Solución Salina (Vehículo de antidepresivo)
- Grupo 3 – Sertralina (1.25 mg/kg) + Veh MK-801 (solución salina)
- Grupo 4 – DMI (1.25 mg/kg) + Veh MK-801 (solución salina)

Grupo 5 – Sertralina (1.25 mg/kg) + MK-801 (1.25 µg/kg)

Grupo 6 – DMI ((1.25 mg/kg) + MK-801 (1.25 µg/kg)

**Experimento 4 Determinar la participación de los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico en el efecto tipo antidepresivo de MK-801 administrado de manera aguda en ambas cepas.**

Se formaron 6 grupos independientes de 6 a 10 animales de ambas cepas como se muestra a continuación.

Grupo 1 – MK-801 (5 µg/kg)

Grupo 2- Vehículo de PCPA (metilcelulosa al 5%) + vehículo de MK-801 (solución salina al 0.9%)

Grupo 3 – PCPA (200 mg/kg) + Vehículo de MK-801 (solución salina al 0.9%)

Grupo 4 – PCPA (200 mg/kg) + MK-801 (5 µg/kg)

Grupo 5 – DSP4 (20 mg/kg) + PCPA (200 mg/kg) +solución salina

Grupo 6 – DSP4 (20 mg/kg) + PCPA (200 mg/kg) + MK-801 (5 µg/kg)

Se realizó la sesión de preprueba 24 horas previas al inicio de los tratamientos

El PCPA o su vehículo fue administrado cada 24 horas durante 3 días consecutivos previos a la administración de solución salina o MK-801 (grupos 2, 3 y 4). La dosis utilizada fue tomada de trabajos previos en el laboratorio (Mostalac-Preciado y cols 2011). El MK-801 o su vehículo se administraron al cuarto día media hora antes de las pruebas conductuales.

La dosis utilizada de DSP4 se basó en el trabajo de Cheetham y cols, 1996, en donde se reporta que a la dosis de 20 mg/kg se depleta el 73% de la noradrenalina cortical. Con la finalidad de proteger a las neuronas serotoninérgicas a los grupos 5 y 6 se les administró sertralina (10 mg/kg) 30 minutos antes de la administración de DSP4 (neurotóxina que afecta a las neuronas noradrenérgicas y serotoninérgicas). Al siguiente día en estos mismos grupos se inició la administración de PCPA (como se describió anteriormente). Al quinto día se administró al MK-801 o su vehículo media hora antes de las pruebas conductuales.

Es importante mencionar que la sertralina administrada de manera aguda en roedores no presenta efecto tipo antidepresivos en la prueba de nado forzado, además el tiempo de vida

media de la sertralina es de 24 horas, por lo tanto, cuando se realizó la prueba de nado forzado, la sertralina ya había sido eliminada del organismo de los animales.

## **5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para determinar las diferencias basales entre ambas cepas se realizó la prueba de U de Mann-Whitney (prueba de t-student no paramétrica).

Para comparar los resultados obtenidos con los distintos fármacos en las pruebas conductuales entre ambas cepas se utilizó la prueba estadística de ANOVA de dos vías, tomando como primer factor las dosis de tratamiento y como segundo factor la cepa de los animales. El análisis posthoc utilizado fue la prueba de Holm-Sidak.

## VII. RESULTADOS

### 1 Diferencias basales entre cepas

- Prueba de nado forzado

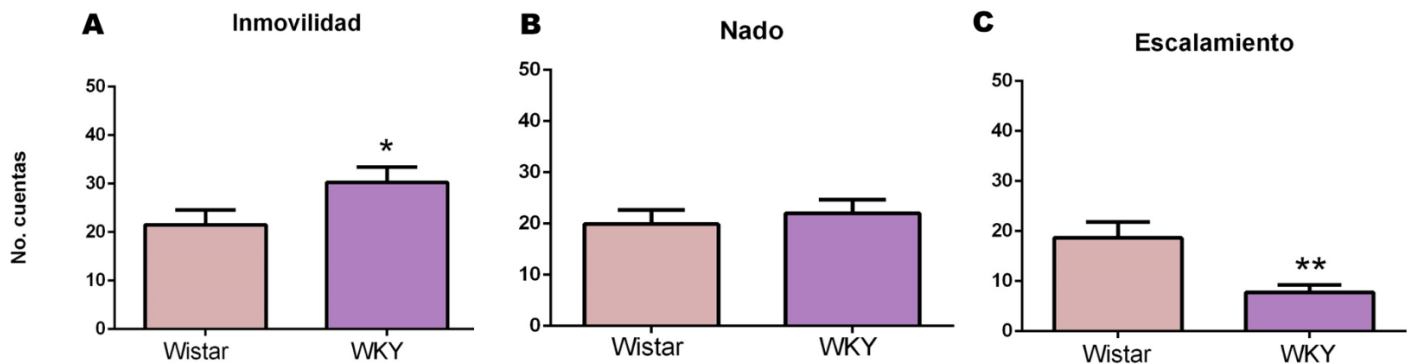


Figura 14 Diferencias basales entre la cepa Wistar y WKY en la prueba de nado forzado. **A**: Conducta de inmovilidad. **B**: Conducta de nado. **C**: Conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e. e. \*  $P < 0.05$  vs Wistar \*\*  $P < 0.01$  vs Wistar. U de Mann-Whitney.

- Actividad locomotora

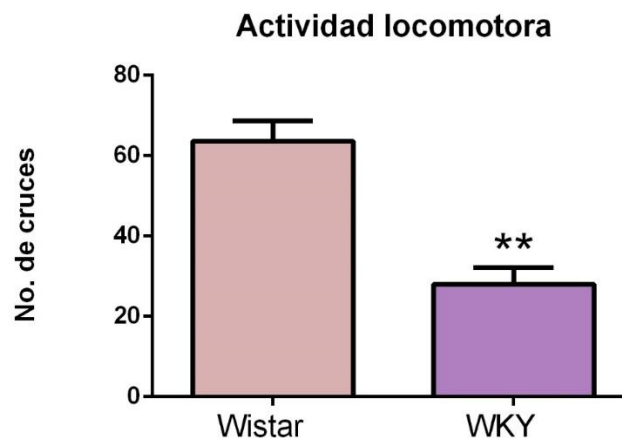


Figura 15 Diferencias basales en la actividad locomotora entre las cepas Wistar y WKY. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs Wistar \*\*  $P < 0.01$  vs Wistar. U de Mann-Whitney.

En la figura 14 se observan las diferencias basales existentes entre las cepas en la prueba de nado forzado. En primera instancia en la figura 14 A se observa que existe una diferencia significativa en la conducta de inmovilidad puesto que la cepa WKY exhibe mayor conducta de

inmovilidad que la cepa Wistar (\*p= 0.047). En cuanto a las conductas activas, en la figura 14 B no se observan diferencias significativas en la conducta de nado (p=0.693), sin embargo, en el escalamiento (fig. 14 C) se observa una diferencia significativa entre cepas (\*\*p=0.001), siendo menor el escalamiento presentado en la cepa WKY que en la cepa Wistar.

Por otro lado, en la figura 15 se observa que los animales WKY presentan menor actividad exploratoria que los animales Wistar (\*\*p<0.001).

Debido a que se encontraron diferencias basales entre ambas cepas, y con la finalidad de que el efecto de los tratamientos sea más evidente, se decidió normalizar los datos tomando como el 100% la media del control de cada una de las cepas.

## 2. Efecto del tratamiento agudo con MK-801 en ambas cepas

### • Prueba de Nado Forzado

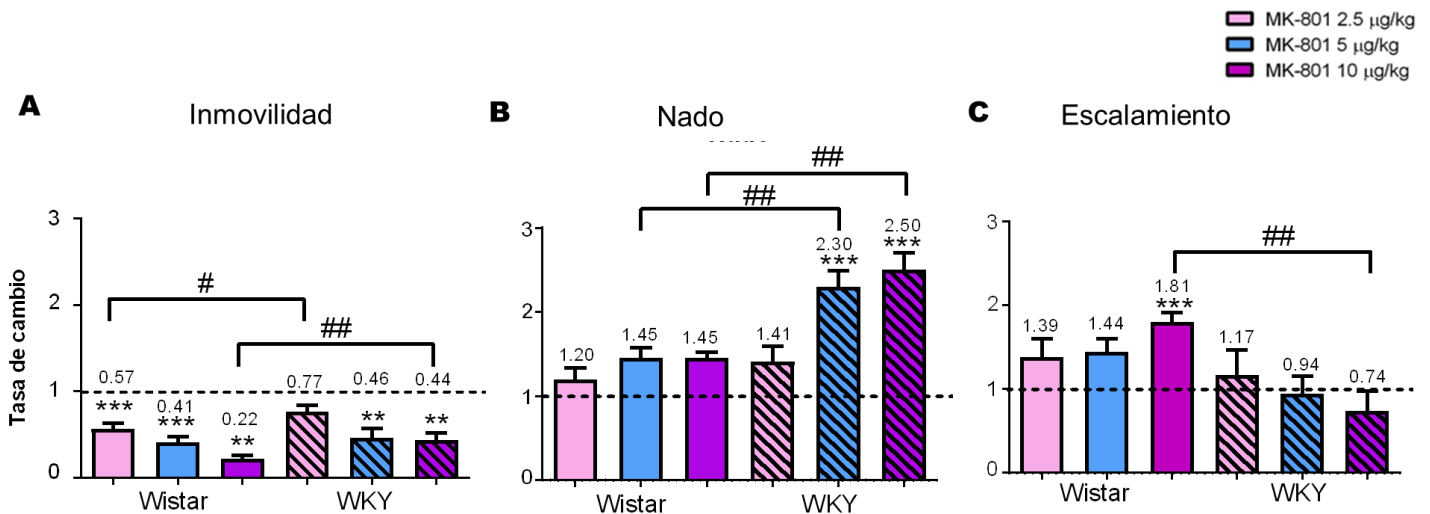


Figura 16 Efecto de la administración aguda de MK-801 a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. **A:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \* P < 0.05 vs el control de la misma cepa. \*\* P < 0.01 vs el control de la misma cepa. \*\*\* P < 0.001 vs el control de la misma cepa. # P < 0.05 vs el mismo grupo de la cepa contraria ## P < 0.01 vs el mismo grupo de la cepa contraria n = 8 a 12. ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-Sidak

- **Actividad locomotora**

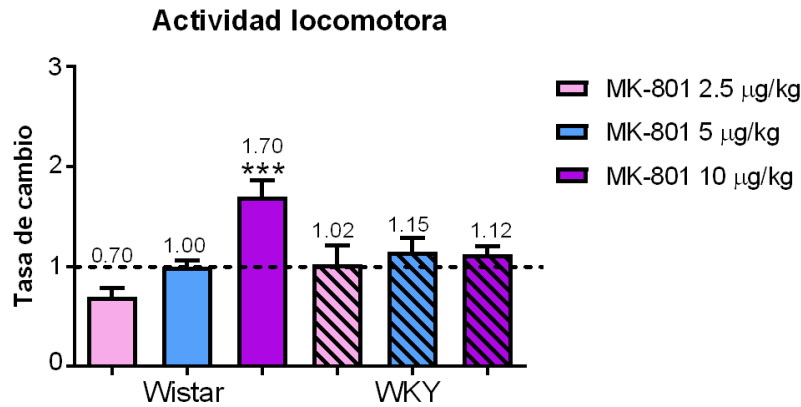


Figura 17 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de MK-801 en ambas cepas expresado como Tasa de cambio con respecto al control con respecto al control. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el control de la misma cepa.  $n = 8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak

Con respecto al tratamiento agudo con MK-801, las dosis de 5 y 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  presentaron un efecto tipo antidepresivo en ambas cepas, al disminuir de manera significativa la conducta de inmovilidad (Fig. 16 A) a costa de un aumento significativo en la conducta de nado con respecto a su respectivo control (Fig. 16 B). Además, sólo en la cepa Wistar se observa un aumento significativo en la conducta de escalamiento con la dosis de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Fig. 16 C).

Los resultados del ANOVA de dos vías en la prueba de nado forzado, nos indica que existe un efecto significativo sobre la conducta de inmovilidad, el cual está dado por la cepa ( $*F_{(1,63)} = 6.89$ ,  $p = 0.011$ ) y el tratamiento ( $***F_{(3,63)} = 42.165$ ,  $p < 0.001$ ), sin embargo, la interacción entre estos dos factores no es significativa ( $F_{(3,63)} = 1.418$ ,  $p = 0.246$ ). En cuanto a la conducta de nado el ANOVA nos indica que los efectos observados dependen tanto de la cepa ( $***F_{(1,63)} = 30.040$ ,  $p < 0.001$ ) como del tratamiento ( $***F_{(3,63)} = 15.872$ ,  $p < 0.001$ ) en relación con la interacción de ambos factores, el ANOVA nos indica que los efectos del tratamiento dependen de la cepa ( $***F_{(3,63)} = 7.721$ ,  $p < 0.001$ ). Por último, los efectos sobre la conducta de escalamiento, de acuerdo con el ANOVA se deben a la cepa ( $*F_{(1,63)} = 6.553$ ,  $p = 0.013$ ), pero no del tratamiento ( $F_{(3,63)} = 0.626$ ,  $p = 0.601$ ), además no existe una interacción significativa entre ambos factores ( $F_{(3,63)} = 1.315$ ,  $p = 0.277$ ).



En cuanto a la actividad locomotora (fig. 17) podemos observar que únicamente la dosis de 10 µg/kg aumenta el número de cruces de manera significativa en la cepa Wistar, razón por la cual se descartó esta dosis para los siguientes experimentos. Con respecto a la cepa WKY el tratamiento con MK-801 no modifica la actividad locomotora con ninguna de las dosis probadas. El análisis de ANOVA de dos vías nos indica que la actividad exploratoria observada no es dependiente de la cepa ( $F_{(1,63)} = 0.190$ ,  $p = 0.664$ ). pero si depende del tratamiento ( $*F_{(3,63)} = 2.901$ ,  $p = 0.042$ ). Por otro lado, no existe interacción entre los factores evaluados, es decir el efecto del tratamiento no depende de la cepa evaluada ( $F_{(3,63)} = 1.739$ ,  $p = 0.168$ )

### 3. Efecto del tratamiento subcrónico de MK-801, desipramina o sertralina en ambas cepas

#### 3.1 Tratamiento subcrónico con MK-801

- Prueba de Nado Forzado

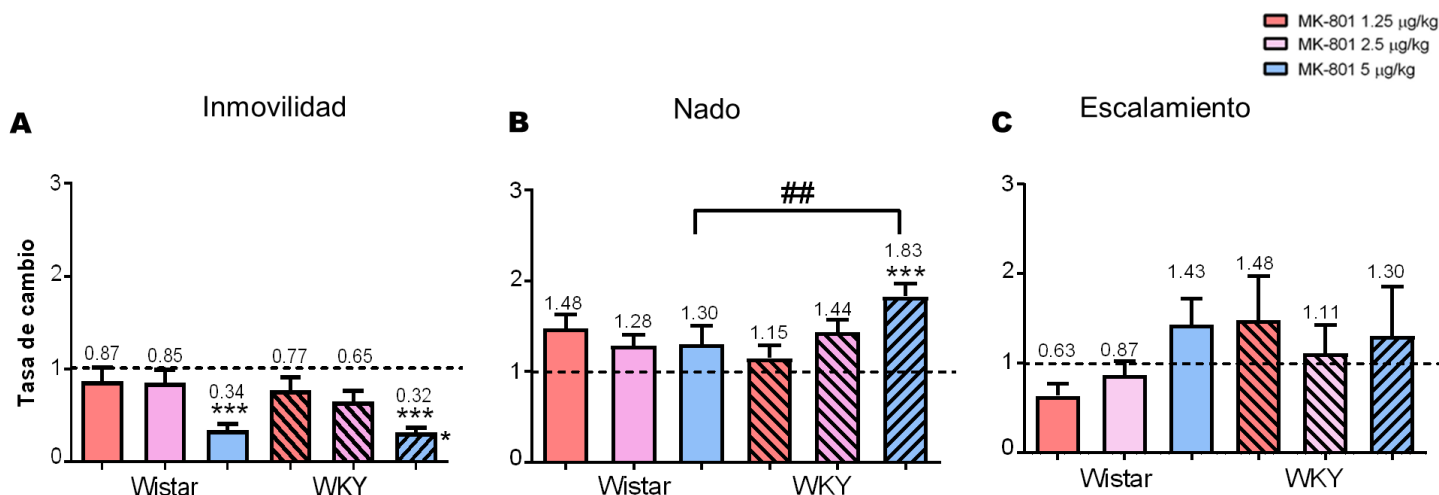


Figura 18. Efecto el tratamiento subcrónico con MK-801 a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. **A:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs el control de la misma cepa. \*\*  $P < 0.01$  vs el control de la misma cepa. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el control de la misma cepa. #  $P < 0.05$  vs el mismo grupo de la cepa contraria ##  $P < 0.01$  vs el mismo grupo de la cepa contraria  $n = 8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-Sidak

- **Actividad locomotora**

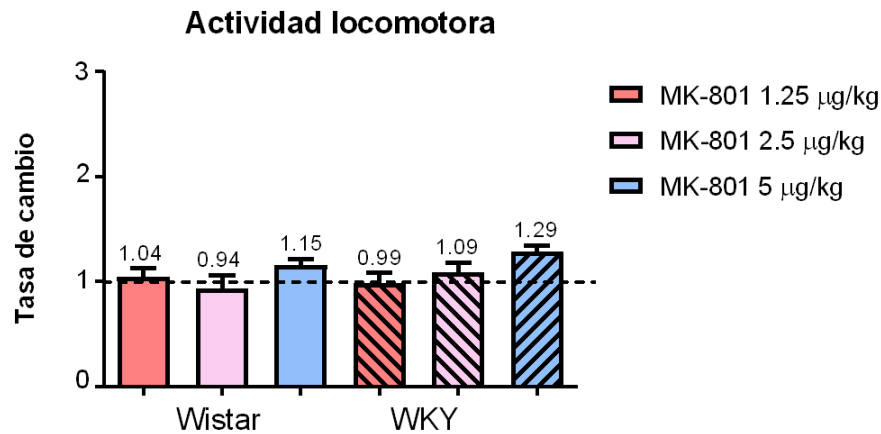


Figura 19 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de MK-801 de manera subcrónica en ambas cepas expresado como tasa de cambio con respecto al control. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el control de la misma cepa.  $N = 8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak

En el efecto del tratamiento subcrónico con MK-801 sobre la conducta de inmovilidad (fig. 18 A) podemos observar que en la cepa Wistar sólo la dosis de  $5 \mu\text{g/kg}$  tiene efecto tipo antidepresivo al reducir la inmovilidad de manera significativa con respecto al grupo control, por otro lado, en la cepa WKY las dosis de  $2.5$  y  $5 \mu\text{g/kg}$  reducen la inmovilidad de manera significativa con respecto al control.

La conducta de nado no se ve modificada en la cepa Wistar con ninguna dosis del fármaco en contraste con la cepa WKY donde la dosis de  $5 \mu\text{g/kg}$  de MK-801 aumenta de manera significativa la conducta de nado con respecto al control (Fig. 18 B). En la figura 18 C se puede observar que en ninguna de las 2 cepas se ve modificada la conducta de escalamiento con respecto a su control.

El ANOVA de dos vías nos indica que existe un efecto significativo sobre la conducta de inmovilidad, el cual no depende de la cepa ( $F_{(1,63)} = 1.270$ ,  $p = 0.265$ ), pero sí del tratamiento (\*\*\*  $F_{(3,63)} = 15.498$ ,  $p < 0.001$ ), sin embargo, la interacción entre estos dos factores no es significativa ( $F_{(3,63)} = 0.377$ ,  $p = 0.776$ ). En cuanto a la conducta de nado, el ANOVA nos indica que los efectos observados no dependen de la cepa ( $F_{(1,63)} = 0.891$ ,  $p = 0.349$ ) pero sí del tratamiento (\*\*\*  $F_{(3,63)} = 6.259$ ,  $p < 0.001$ ), adicionalmente existe interacción entre ambos factores (\*  $F_{(3,63)} = 3.661$ ,

p=0.018). La conducta de escalamiento, de acuerdo con el ANOVA, no dependen de la cepa ( $F_{(1,63)} = 1.198$ ,  $p=0.278$ ), ni del tratamiento ( $F_{(3,63)} = 0.675$ ,  $p=0.571$ ), además, los efectos observados no se deben a la interacción entre la cepa y el tratamiento ( $F_{(3,63)} = 0.983$ ,  $p=0.408$ ).

Por último, la actividad locomotora no se ve afectada por el tratamiento con MK-801 (Fig. 19). El ANOVA de dos vías no indicó cambios en el factor cepa ( $F_{(1,63)} = 1.051$ ,  $p=0.310$ ), pero si indico cambios en el factor tratamiento ( $*F_{(3,63)} = 3.799$ ,  $p=0.015$ ) y no existió interacción entre ambos factores ( $F_{(3,63)} = 0.874$ ,  $p=0.460$ ).

### 3.2 Tratamiento subcrónico con desipramina (DMI)

- Prueba de nado forzado

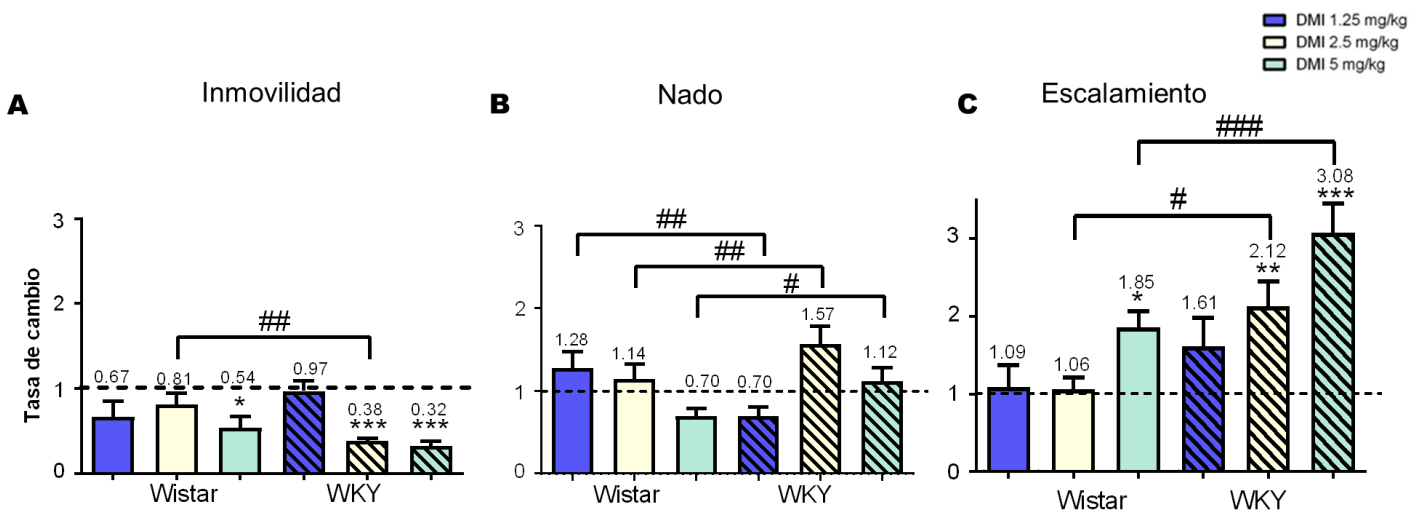


Figura 20 Efecto el tratamiento subcrónico con DMI a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. **A:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs el control de la misma cepa. \*\*  $P < 0.01$  vs el control de la misma cepa. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el control de la misma cepa. #  $P < 0.05$  vs el mismo grupo de la cepa contraria ##  $P < 0.01$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. ###  $P < 0.001$  vs el mismo grupo de la cepa contraria  $n = 8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-Sidak

- **Actividad locomotora**

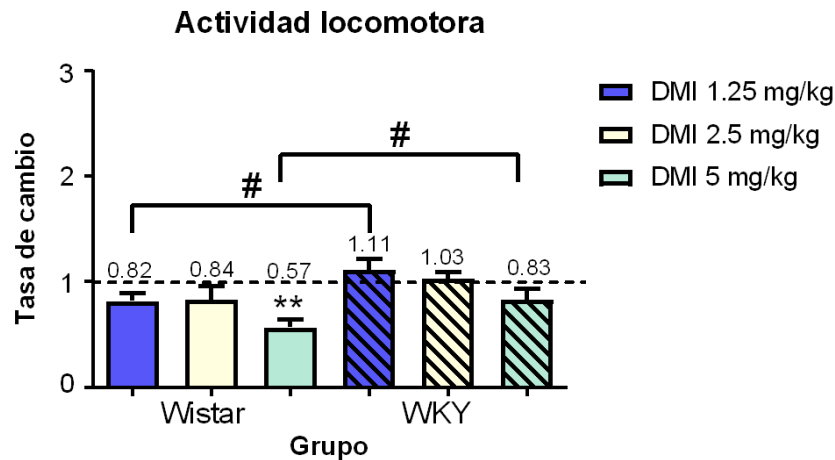


Figura 21 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de DMI de forma subcrónica en ambas cepas expresada como tasa de cambio con respecto al control. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*\*  $P < 0.01$  vs el control de la misma cepa. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el control de la misma cepa. #  $P < 0.05$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el control de la misma cepa. ###  $P < 0.001$  vs el mismo grupo de la cepa contraria.  $n = 8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak.

Los efectos del tratamiento con DMI a dos diferentes dosis se muestran en las figuras 20 y 21. En cuanto al efecto sobre la conducta de inmovilidad (Fig. 20 A) está se ve reducida de manera significativa en la cepa Wistar con la dosis de 5 mg/kg y en la cepa WKY con las dosis de 2.5 y 5 mg/kg. Al comparar entre cepas existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos que recibieron la dosis de 2.5 mg/kg, siendo mayor el porcentaje de reducción en la cepa WKY en comparación con la cepa Wistar (0.38 vs 0.81).

Con respecto a la conducta de nado no se observan cambios en esta conducta en ninguna de las dos cepas con respecto a sus respectivos controles (Fig. 20 B). En contraste la conducta de escalamiento en la cepa Wistar aumento sólo con la dosis de 5 mg/kg mientras que en la cepa WKY el escalamiento aumentó significativamente a las dosis de 2.5 y 5 mg/kg de DMI (fig. 20 C).

El ANOVA de dos vías para la conducta de inmovilidad señala que las diferencias observadas entre los grupos no se deben a la cepa ( $F_{(1,71)} = 1.311$ ,  $p = 0.257$ ), sin embargo, los efectos observados sí dependen del tratamiento (\*\*\*)  $F_{(3,71)} = 11.803$ ,  $p < 0.001$ ). De acuerdo con el

ANOVA los efectos del tratamiento dependen de la cepa que se esté evaluando, es decir existe interacción entre ambos factores (\*\*  $F_{(3,71)} = 4.011$ ,  $p=0.011$ ). Para la conducta de nado el ANOVA nos señala que el factor cepa no influye sobre los efectos observados ( $F_{(1,71)} = 0.434$ ,  $p=0.512$ ), en contraste, los efectos observados en esta conducta dependen del tratamiento (\*\* $F_{(3,71)} = 5.235$ ,  $p=0.003$ ), además de que existe interacción entre la cepa y el tratamiento (\* $F_{(3,71)} = 3.691$ ,  $p=0.016$ ). Los efectos observados en la conducta de escalamiento dependen únicamente de la cepa (\*\* $F_{(1,71)} = 12.374$ ,  $p<0.001$ ), mientras que no depende del tratamiento ( $F_{(3,71)} = 2.018$ ,  $P=0.12$ ). Por otro lado, existe interacción entre ambos factores (\*\* $F_{(3,71)} = 11.505$ ,  $p<0.001$ )

La actividad locomotora (fig. 21) se ve reducida de manera significativa con la dosis de 5 mg/kg en la cepa Wistar. En la cepa WKY no se observan cambios sobre la actividad locomotora. Al comparar entre cepas se observan diferencias basales en la actividad exploratoria entre los animales de ambas cepas. Estas diferencias de acuerdo con el ANOVA están dadas por efecto de la cepa (\*\* $F_{(1,71)} = 9.769$ ,  $p=0.003$ ) y el tratamiento (\*\* $F_{(3,71)} = 6.108$ ,  $p<0.001$ ), a pesar de que no existe interacción entre ellos ( $F_{(3,71)} = 1.153$ ,  $p=0.335$ ).

### 3.3 Tratamiento subcrónico con Sertralina

- Prueba de nado forzado

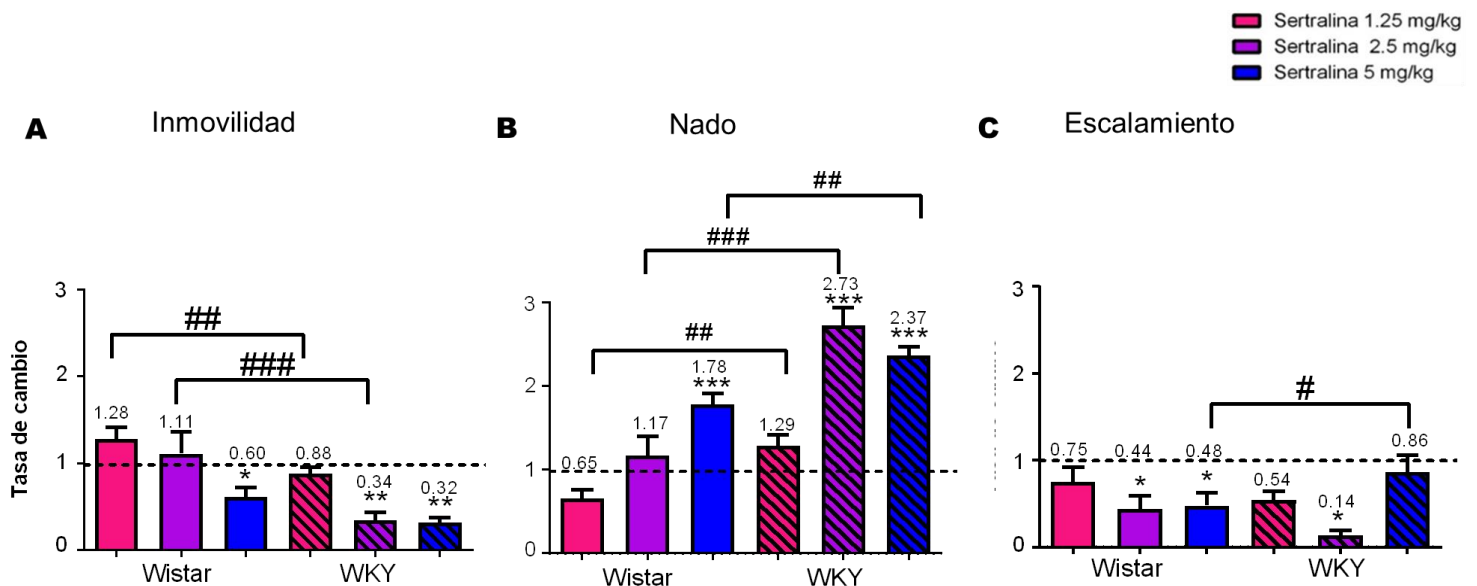


Figura 22 Efecto el tratamiento subcrónico con Sertralina a distintas dosis en ambas cepas en la prueba de nado forzado expresado como tasa de cambio con respecto al control. **A:** Tasa de cambio con

respecto al control en la conducta de inmovilidad. **B**: Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de nado. **C**: Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs el control de la misma cepa. \*\*  $P < 0.01$  vs el control de la misma cepa. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el control de la misma cepa. #  $P < 0.05$  vs el mismo grupo de la cepa contraria ##  $P < 0.01$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. ###  $P < 0.001$  vs el mismo grupo de la cepa contraria  $n = 8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-Sidak

- **Actividad locomotora**

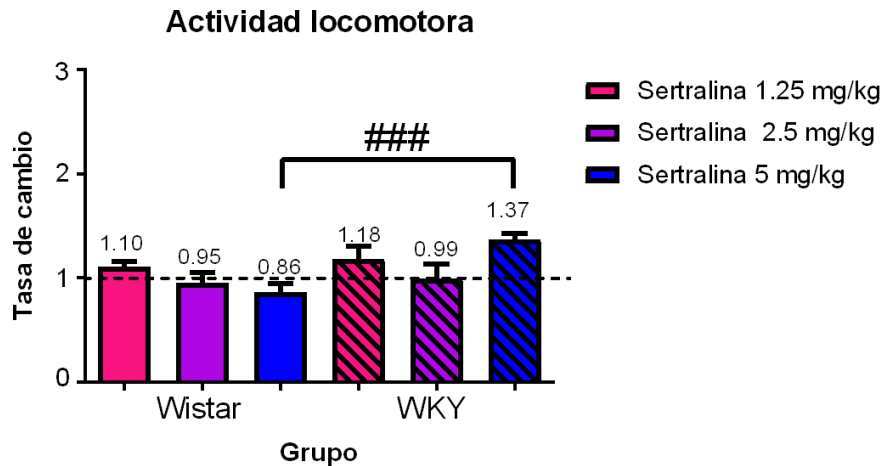


Figura 23 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto al administrar distintas dosis de sertralina en ambas cepas expresado como tasa de cambio con respecto al control. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. ###  $P < 0.001$  vs el mismo grupo de la cepa contraria  $n = 8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak

Las figuras 22 y 23 muestran el efecto del tratamiento con sertralina a la dosis de 1.25 mg/kg, 2.5 mg/kg y 5 mg/kg. En la figura 22 (panel A) se puede apreciar que el tratamiento con sertralina reduce la inmovilidad de manera significativa en la cepa Wistar con la dosis de 5mg/kg únicamente, mientras que en la cepa WKY se observa una reducción significativa de la conducta de inmovilidad con las dosis de 2.5 y 5 mg/kg. Estas diferencias en la conducta de inmovilidad, de acuerdo con el ANOVA de dos vías están dadas por el factor cepa (\*\*F<sub>(1,67)</sub> = 18.492,  $p < 0.001$ ), y el factor tratamiento (\*\*F<sub>(3,67)</sub> = 11.642,  $p < 0.001$ ) además se hay interacción entre ambos factores (\* F<sub>(3,67)</sub> = 3.372,  $p = 0.029$ ).

La conducta de nado en la cepa Wistar aumenta de manera significativa con la administración de 5 mg/kg de sertralina, mientras que en la cepa WKY se observa un aumento en el nado con las dosis de 2.5 y 5 mg/kg del fármaco (Fig. 22 B). Para la conducta de nado el ANOVA indica que estas diferencias dependen del factor cepa (\*\*F<sub>(1,67)</sub> = 71.285,  $p < 0.001$ ), del factor

tratamiento ( $*** F_{(3,67)} = 42.167, p < 0.001$ ) y que el efecto del tratamiento depende de la cepa, es decir que existe interacción ( $*** F_{(3,67)} = 13.917, p < 0.001$ ) entre ambos factores.

En los paneles C de la figura 22 se observa que en la cepa Wistar la administración del fármaco reduce la conducta de escalamiento de manera significativa a las dosis de 2.5 y 5 mg/kg, mientras que en la cepa WKY no se observan cambios en esta conducta. El ANOVA para esta conducta señala que los efectos observados no dependen de la cepa ( $F_{(1,67)} = 0.140, p = 0.71$ ) pero sí del tratamiento ( $** F_{(1,67)} = 5.439, p = 0.002$ ). Además, existe interacción entre ellos ( $* F_{(3,67)} = 3.260, p = 0.028$ ).

Por último, no se observan cambios en la actividad locomotora de ambas cepas (fig. 23). Con respecto al ANOVA, los efectos observados sobre la actividad locomotora dependen únicamente de la cepa; ( $* F_{(1,67)} = 5.783, p = 0.019$ ). Por otro lado, el tratamiento no es un factor que modifique la actividad locomotora ( $F_{(3,67)} = 1.580, p = 0.204$ ), sin embargo, la interacción entre ambos factores es significativa ( $** F_{(3,67)} = 4.268, p = 0.008$ ).

#### 4. Efecto antidepresivo del tratamiento subcrónico de la combinación de dosis subóptimas de MK-801, desipramina o sertralina en ambas cepas.

- Prueba de nado forzado

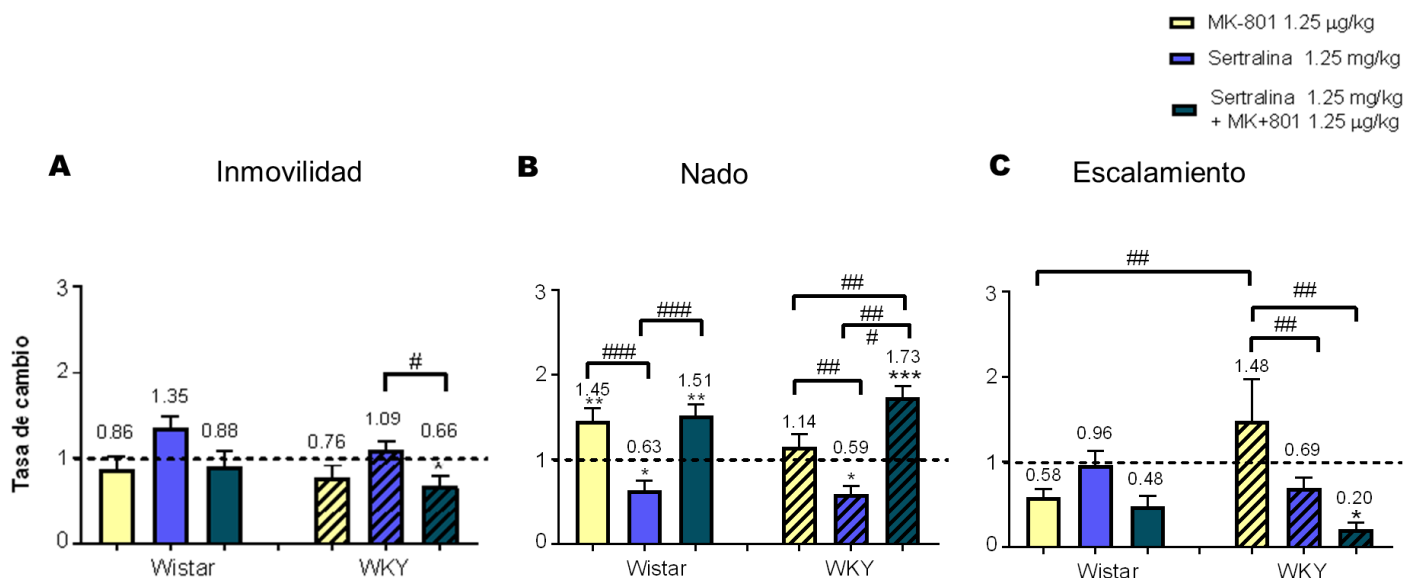


Figura 24. Efecto de la administración subcrónica de sertralina sola (1.25 mg/kg) o en combinación con MK-801 (1.25 µg/kg) en ambas cepas. **A:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con

respecto al control en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs el control. \*\*  $P < 0.01$  vs el control. #  $P < 0.05$  vs el antidepresivo sólo. ##  $P < 0.01$  vs el antidepresivo sólo. ###  $P < 0.001$  vs el antidepresivo sólo. #  $P < 0.05$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. ##  $P < 0.01$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. ###  $P < 0.001$  vs el mismo grupo de la cepa contraria  $n=8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak

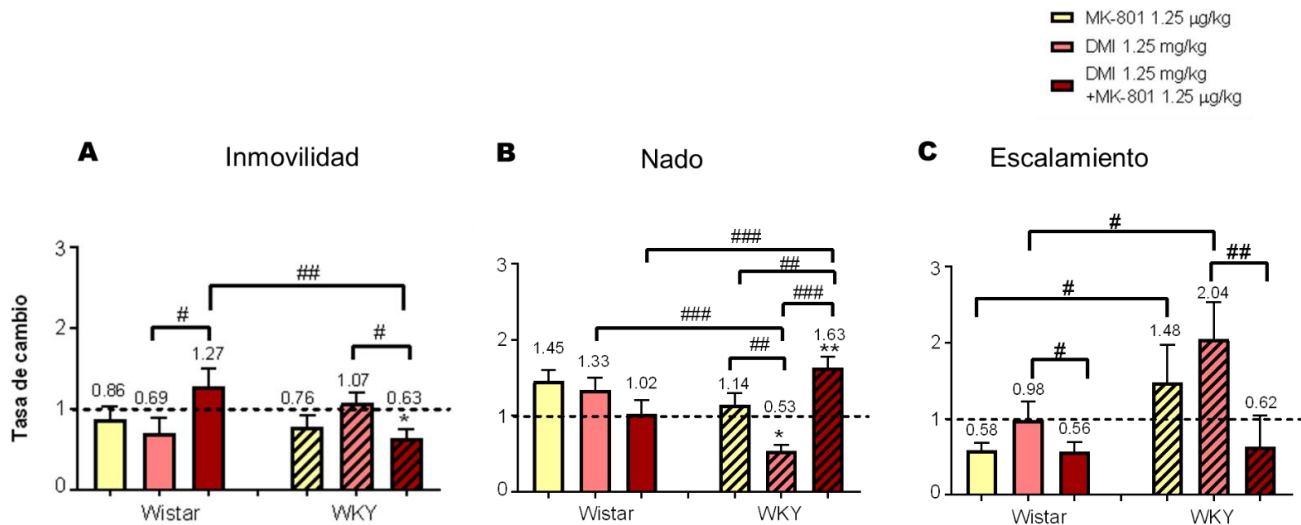


Figura 25 Efecto de la administración subcrónica de DMI solo (1.25 mg/kg) o en combinación con MK-801 (1.25 µg/kg) en ambas cepas. **A:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con respecto al control en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs el control. \*\*  $P < 0.01$  vs el control. #  $P < 0.05$  vs el antidepresivo sólo. ##  $P < 0.01$  vs el antidepresivo sólo. ###  $P < 0.001$  vs el antidepresivo sólo.  $n=8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak

### • Actividad locomotora

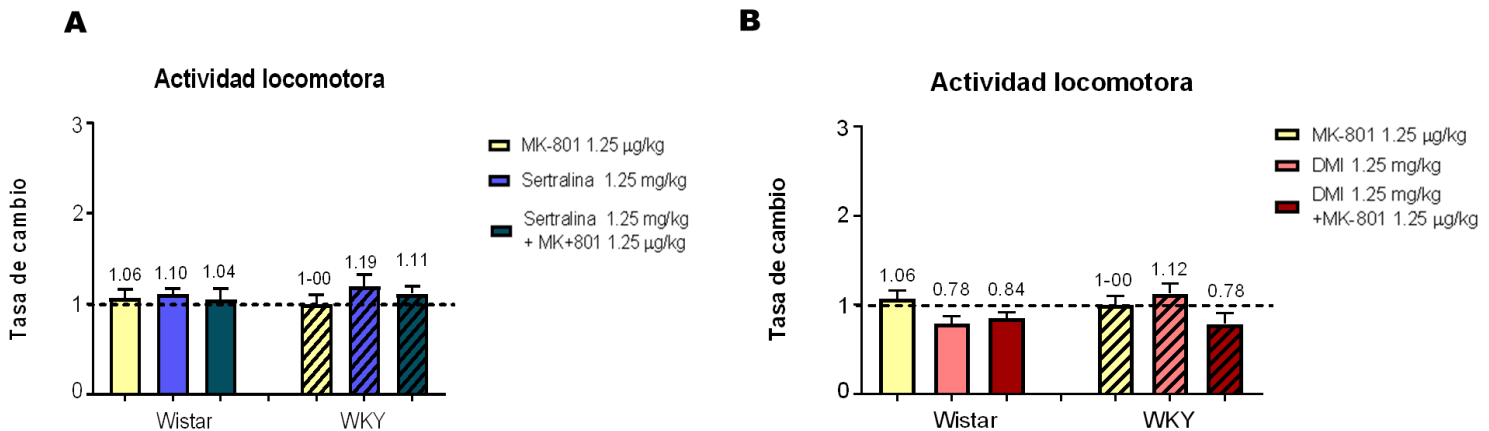


Figura 26 Actividad locomotora en la prueba de campo abierto con la administración subcrónica de los fármacos solos o combinados en ambas cepas. **A:** Tasa de cambio en el número de cruces con respecto al control del grupo tratado con sertralina sola o en combinación con MK-801. **B:** Tasa de cambio en el número de cruces con respecto al control del grupo tratado con DMI solo o en combinación con MK-801. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e.  $n=8$  a  $12$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak



En las figuras 24 a 26 se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de nado forzado y campo abierto en ambas cepas, al administrar dosis subóptimas de MK-801, DMI o Sertralina (1.25 µg/kg, 1.25 mg/kg y 1.25 mg/kg respectivamente), así como las conductas observadas al combinar tratamientos de igual manera a dosis subóptimas (MK-801 con DMI o Sertralina con DMI).

La conducta de inmovilidad en la cepa Wistar (Fig. 24 A) no se modificada al administrar sertralina o DMI solos o en combinación con MK-801 con respecto al grupo control. En contraste, al administrar sertralina combinada con MK-801 se observa un aumento significativo en la conducta de nado (Fig. 24 B) con respecto tanto al control como al grupo administrado solo con sertralina. Mientras que en el grupo que recibió DMI solo o en combinación con MK-801 (Fig. 25 B) no se observan diferencias significativas en la conducta de nado. En la figura 24 C no observamos cambios significativos en el escalamiento con respecto al control con ninguno de los tratamientos evaluados.

En la cepa WKY la conducta de inmovilidad se ve reducida de manera significativa al administrar tanto DMI como sertralina en combinación con MK-801 en comparación con el grupo control y con los grupos tratados solo con el antidepresivo correspondiente a la combinación (Fig. 25 A). La conducta de nado aumenta de manera significativa en los grupos administrados con las combinaciones de los fármacos con respecto al control y con respecto a los grupos administrados solo con DMI o sertralina respectivamente (Fig. 25 B). Para la conducta de escalamiento mostrada en la figura 25 C sólo se observa una reducción estadísticamente significativa en el grupo que fue tratado con sertralina más MK-801.

El ANOVA de dos vías para el tratamiento con sertralina sola y en combinación con MK-801 (fig. 24) no señala diferencias estadísticas en la conducta de inmovilidad debidas a la cepa ( $F_{(1,63)} = 2.784$ ,  $p=0.101$ ), pero si se encontraron diferencias debidas al tratamiento ( $**F_{(3,63)} = 5.408$ ,  $p=0.003$ ), sin embargo, no existe interacción entre ambos factores ( $F_{(3,63)} = 0.470$ ,  $p=0.705$ ). De acuerdo con el ANOVA, en la conducta de nado no existen diferencias debidas a la cepa ( $F_{(1,63)} = 0.184$ ,  $p=0.670$ ), si existe diferencias debida al factor tratamiento ( $***F_{(3,63)} = 30.253$ ,  $p<0.001$ ) sin embargo no existe interacción entre los factores ( $F_{(3,63)} = 1.866$ ,  $p=0.146$ ).

Para la conducta de escalamiento el ANOVA nos indica los efectos observados no se deben al factor cepa ( $F_{(1,63)} = 0.385$ ,  $p=0.537$ ) mientras que sí son debidos al tratamiento ( $**F_{(3,63)} = 5.107$ ,  $p=0.003$ ), además existe interacción entre ambos factores ( $*F_{(3,63)} = 3.727$ ,  $p= 0.017$ ).

Por otro lado, el ANOVA de dos vías para el tratamiento con DMI sólo y en combinación con MK-801 no señala diferencias estadísticas en las conductas de inmovilidad debidas a la cepa ( $F_{(1,63)} = 0.838$ ,  $p=0.364$ ) o al tratamiento ( $F_{(3,63)} = 0.665$ ,  $p=0.577$ ) aunque si existe interacción entre ambos factores ( $**F_{(3,63)} = 24.570$ ,  $p=0.006$ ). En cuanto al nado el ANOVA nos indica que los efectos observados no están dados por la cepa ( $F_{(1,63)} = 2.058$ ,  $p=0.157$ ), pero sí por el tratamiento ( $**F_{(3,63)} = 5.315$ ,  $p=0.003$ ), además existe interacción entre ambos factores ( $***F_{(3,63)} = 11.054$ ,  $p<0.001$ ). Por último, para el escalamiento el ANOVA señala diferencias debidas a la cepa ( $*F_{(1,63)} = 5.368$ ,  $p=0.024$ ) y al tratamiento ( $*F_{(3,63)} = 2.997$ ,  $p=0.041$ ) sin embargo no existe interacción entre ambos factores ( $F_{(3,63)} = 1.600$ ,  $p= 0.200$ ).

Finalmente, la actividad locomotora (Fig. 26 A y 26 B) de los animales de ambas cepas no se ve modificada en ninguno de los grupos con respecto a su control. En cuanto al ANOVA no se encontraron diferencias significativas en la actividad locomotora para los grupos tratados con sertralina (Fig. 26 A) debidas a la cepa ( $F_{(1,63)} = 0.111$ ,  $p=0.740$ ) o al tratamiento ( $F_{(3,63)} = 1.053$ ,  $p=0.377$ ), además no existe interacción entre ambos factores ( $F_{(3,63)} = 0.299$ ,  $p=0.826$ ). De igual manera, para los grupos tratados con DMI (Fig. 26 B) no se encontraron diferencias debidas a la cepa ( $F_{(1,63)} = 0.757$ ,  $p=0.388$ ), al tratamiento ( $F_{(3,63)} = 2.575$ ,  $p=0.063$ ) o a la interacción ( $F_{(3,63)} = 2.551$ ,  $p=0.065$ ) entre ambos factores

Debido a que se observó que el MK-801 solo y en combinación con DMI o sertralina aumentó principalmente la conducta de nado, se decidió utilizar a un inhibidor de la enzima triptófano hidroxilasa, PCPA para depletar la concentración de serotonina en el cerebro. Además, se combinó el PCPA con un neurotóxina para las neuronas noradrenérgica (DSP4), con la finalidad de observar si aun en ausencia de serotonina y noradrenalina el MK-801 presentaba efectos antidepresivos.

5. Participación de los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico en el efecto tipo antidepresivo de MK-801 administrado de manera aguda en ambas cepas.

5.1 Efecto de la administración de PCPA solo y en combinación con DSP4 en la prueba de nado forzado

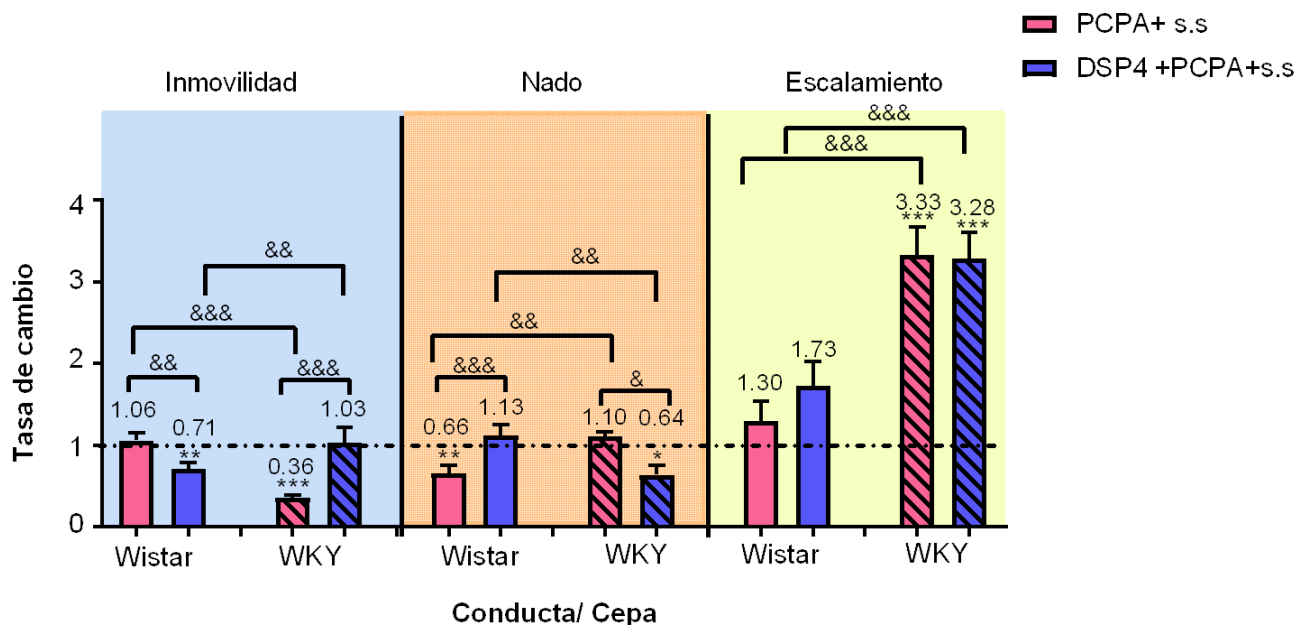


Figura 27 Efecto de la administración de PCPA solo y en combinación con DSP4 en la prueba de nado forzado. **A:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs el vehículo. \*\*  $P < 0.01$  vs el vehículo. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el vehículo. &  $P < 0.05$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. &&  $P < 0.01$  vs grupo de la cepa contraria. &&&  $P < 0.001$  vs el antidepressivo sólo.  $n=4$  a  $10$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak

En la figura 27 observamos los efectos de la neurotóxina PCPA administrada sola y en combinación con DSP4. Para la cepa Wistar el PCPA no modificó la conducta de inmovilidad (panel A) con respecto al vehículo, sin embargo, cuando se administró PCPA en combinación con DSP4 se reduce la conducta de inmovilidad de manera significativa con respecto al grupo que recibió PCPA solo y con respecto al vehículo. En cuanto a las conductas activas se puede observar que la conducta de nado (panel B) disminuye de manera significativa cuando se administra PCPA solo, y que al administrar DSP4+PCPA se revierte este efecto de manera

significativa, regresando a niveles basales. El escalamiento (panel C) no se vio modificado de manera significativa con ninguno de los dos tratamientos.

En la cepa WKY (figura 27) se presentaron efectos distintos a los observados en la cepa Wistar. En primer lugar, la administración de PCPA redujo de manera significativa la conducta de inmovilidad con respecto al vehículo, efecto que se revierte con la administración de DSP4 en conjunto con PCPA, presentándose una diferencia significativa entre ambos grupos. En segundo lugar, la conducta de nado no se modificó con la administración de PCPA en esta cepa, en contraparte, al administrar la combinación de neurotóxicos la conducta de nado se redujo de manera significativa con respecto al vehículo y al grupo que recibió únicamente PCPA. Por último, la conducta de escalamiento presentó un aumento significativo con respecto al vehículo tanto en el grupo que recibió sólo PCPA, como en el grupo que recibió la combinación de neurotoxinas.

Además, observamos diferencias significativas entre las cepas. En la conducta de inmovilidad existe una diferencia significativa entre los grupos que recibieron PCPA, y entre los grupos que recibieron la combinación de PCPA y DSP4. En la conducta de nado y de escalamiento se observan también diferencias entre cepas en ambos evaluados.

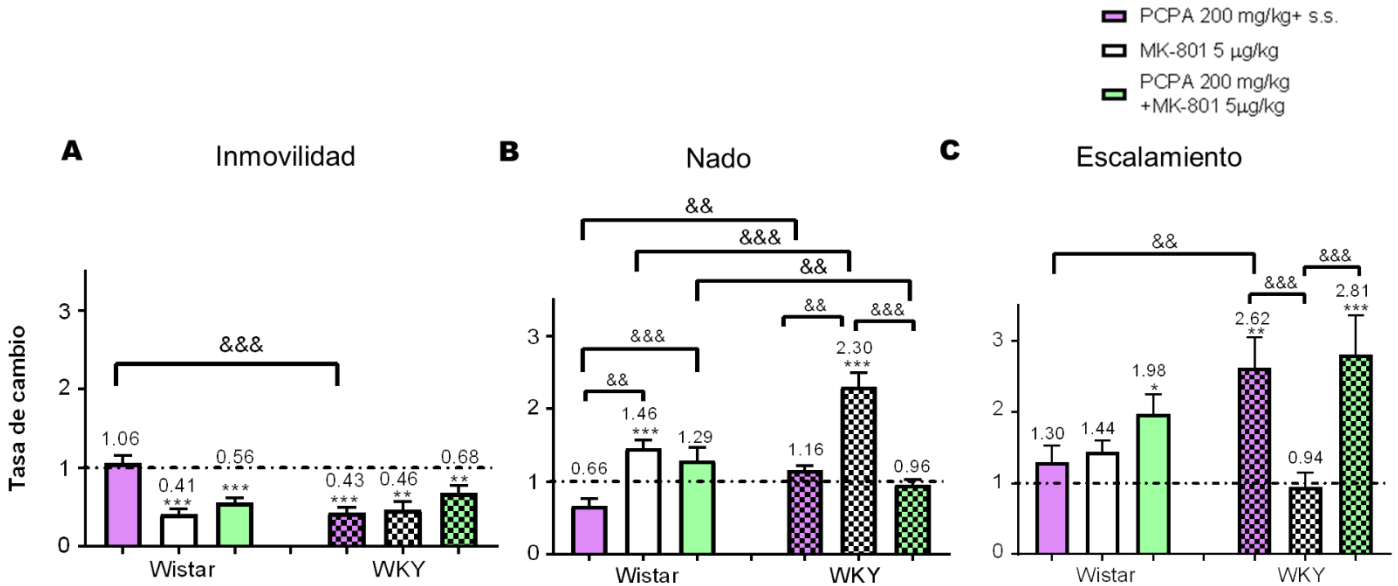
El ANOVA de dos vías para la conducta de inmovilidad señala que las diferencias observadas entre los grupos se deben a la cepa ( $*F_{(1,46)} = 4.903$ ,  $p = 0.032$ ) y al tratamiento ( $***F_{(2,46)} = 10.727$ ,  $p < 0.001$ ). De acuerdo con el ANOVA los efectos del tratamiento dependen de la cepa que se esté evaluando, es decir existe interacción entre ambos factores ( $***F_{(2,46)} = 26.692$ ,  $p < 0.001$ ). Para la conducta de nado el ANOVA nos señala que los efectos observados no dependen del factor cepa ( $F_{(1,46)} = 0.048$ ,  $p = 0.828$ ), ni del factor tratamiento ( $F_{(2,46)} = 1.905$ ,  $p = 0.162$ ), sin embargo, existe interacción entre la cepa y el tratamiento ( $***F_{(2,46)} = 16.718$ ,  $p < 0.001$ ). Los efectos observados en la conducta de escalamiento dependen de la cepa ( $***F_{(1,46)} = 45.172$ ,  $p < 0.001$ ), y del tratamiento ( $***F_{(2,46)} = 33.234$ ,  $p < 0.001$ ), además, existe interacción entre ambos factores ( $***F_{(2,46)} = 15.246$ ,  $p < 0.001$ ).

Con base en estos resultados y con la finalidad de observar de manera clara el efecto de las neurotoxinas PCPA y DSP4 sobre el efecto tipo antidepresivo de MK-801, en las gráficas

posteriores los datos se normalizaron con respecto al vehículo para la evaluación de la participación tanto del sistema serotoninérgico como del sistema noradrenérgico.

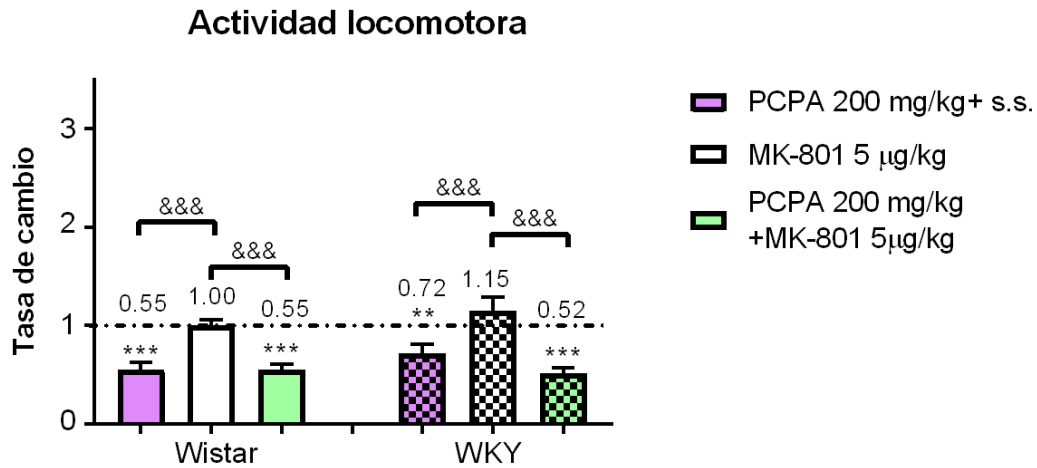
## 5.2 Participación del sistema serotoninérgico en el efecto antidepresivo de MK-801

- Prueba de nado forzado



**Figura 28** Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pre tratados con PCPA en la prueba de nado forzado. **A:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*  $P < 0.05$  vs el vehículo. \*\*  $P < 0.01$  vs el vehículo. &&&  $P < 0.001$  vs MK-801. &&  $P < 0.01$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. &&&  $P < 0.001$  vs el mismo grupo de la cepa contraria.  $n=8$  a  $10$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak.

- **Actividad locomotora**



*Figura 29* Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pretratados con PCPA sobre la actividad locomotora expresado como tasa de cambio con respecto al vehículo. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*\*\*  $P < 0.001$  vs el vehículo. &&&  $P < 0.001$  vs MK-801.  $n=8$  a  $10$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak.

El efecto de la administración de la neurotóxina PCPA se observa en la figura 28. La conducta de inmovilidad en la cepa Wistar no se modifica al administrar el PCPA de manera individual, sin embargo, sí se observa una reducción significativa en esta conducta cuando se administra PCPA+MK-801 con respecto al control. Mientras que en la cepa WKY el PCPA por sí solo reduce de manera significativa la conducta de inmovilidad de manera similar al MK-801 (43 % vs 46 % respectivamente). La reducción de la inmovilidad permanece aún en el grupo que recibió la combinación de MK-801+ PCPA.

En cuanto a la conducta de nado en la cepa Wistar el tratamiento con PCPA no produjo cambios con respecto al vehículo, mientras que en el grupo que recibió MK-801 se observa un aumento significativo del nado respecto al vehículo, efecto que se pierde cuando se administra PCPA+MK-801. Además, observamos que existe una diferencia significativa entre el grupo que recibió PCPA+MK-801 con respecto al grupo administrado con PCPA.

La conducta de escalamiento en las ratas Wistar no se ve modificada de manera significativa en los grupos tratados con los PCPA y MK-801 por separado, sí se observa un aumento significativo de esta conducta en aquellos animales que recibieron la combinación de MK-801 y PCPA.

Para la cepa WKY, los tres tratamientos redujeron de manera significativa la conducta de inmovilidad. En el grupo administrado con PCPA no se observan cambios en la conducta de nado, mientras que en el grupo que recibió MK-801 aumenta de manera significativa la conducta de nado, y este efecto se pierde en el grupo que recibió PCPA+MK-801. Por otro lado, la conducta de escalamiento aumentó significativamente en el grupo tratado con PCPA, mientras que en el grupo tratado con MK-801 no se modificó esta conducta con respecto al vehículo. En contraste en el grupo que recibió PCPA+MK-801 se observa un aumento significativo de la conducta de escalamiento.

De acuerdo con el ANOVA de dos vías la conducta de inmovilidad señala que las diferencias observadas entre los grupos se deben a la cepa ( $*F_{(1,70)} = 5.382$ ,  $p = 0.023$ ) y al tratamiento ( $***F_{(3,70)} = 22.873$ ,  $p < 0.001$ ). El ANOVA también nos indica que existe interacción entre ambos factores ( $***F_{(3,70)} = 12.865$ ,  $p < 0.001$ ). En cuanto a la conducta de nado el ANOVA nos señala que los efectos observados dependen del factor cepa ( $**F_{(1,70)} = 11.141$ ,  $p = 0.001$ ), y del factor tratamiento ( $***F_{(3,70)} = 32.078$ ,  $p < 0.001$ ), además existe interacción entre ambos factores ( $***F_{(3,70)} = 11.558$ ,  $p < 0.001$ ). Finalmente, los efectos observados en la conducta de escalamiento no se deben al factor cepa ( $F_{(1,70)} = 3.814$ ,  $p = 0.055$ ), pero si dependen del tratamiento ( $***F_{(3,70)} = 9.686$ ,  $p < 0.001$ ), además, existe interacción entre ambos factores ( $*F_{(3,70)} = 3.670$ ,  $p = 0.016$ ).

Por último, la actividad locomotora de los animales tratados con PCPA y con la combinación de PCPA y MK-801 en ambas cepas (fig. 29) se redujo significativamente con respecto al vehículo y al grupo administrado solo con MK-801. Sin embargo, esta reducción no influye sobre los efectos observados en la prueba de nado forzado. Para la actividad locomotora el ANOVA de dos vías nos indica que los efectos observados no se deben al factor cepa ( $F_{(1,70)} = 2.214$ ,  $p = 0.141$ ), pero si dependen del tratamiento ( $***F_{(3,70)} = 29.815$ ,  $p < 0.001$ ), sin embargo, no se presentó interacción entre ambos factores ( $F_{(3,70)} = 1.154$ ,  $p = 0.334$ ).

Estos hallazgos nos confirman que el componente serotoninérgico fue abatido con la administración de PCPA puesto que la conducta de nado no se modificó, sin embargo,

observamos que se estimuló un componente catecolaminérgico en ambas cepas, puesto que la conducta de escalamiento aumentó significativamente.

Razón por la cual se decidió administrar una neurotóxina noradrenérgica (DSP4) en combinación con PCPA y MK-801, para discernir si los efectos observados con PCPA y MK-801 se debían a la estimulación de la neurotransmisión noradrenérgica.

### 5.3 Participación del sistema noradrenérgico en el efecto antidepresivo de MK-801.

- Prueba de nado forzado

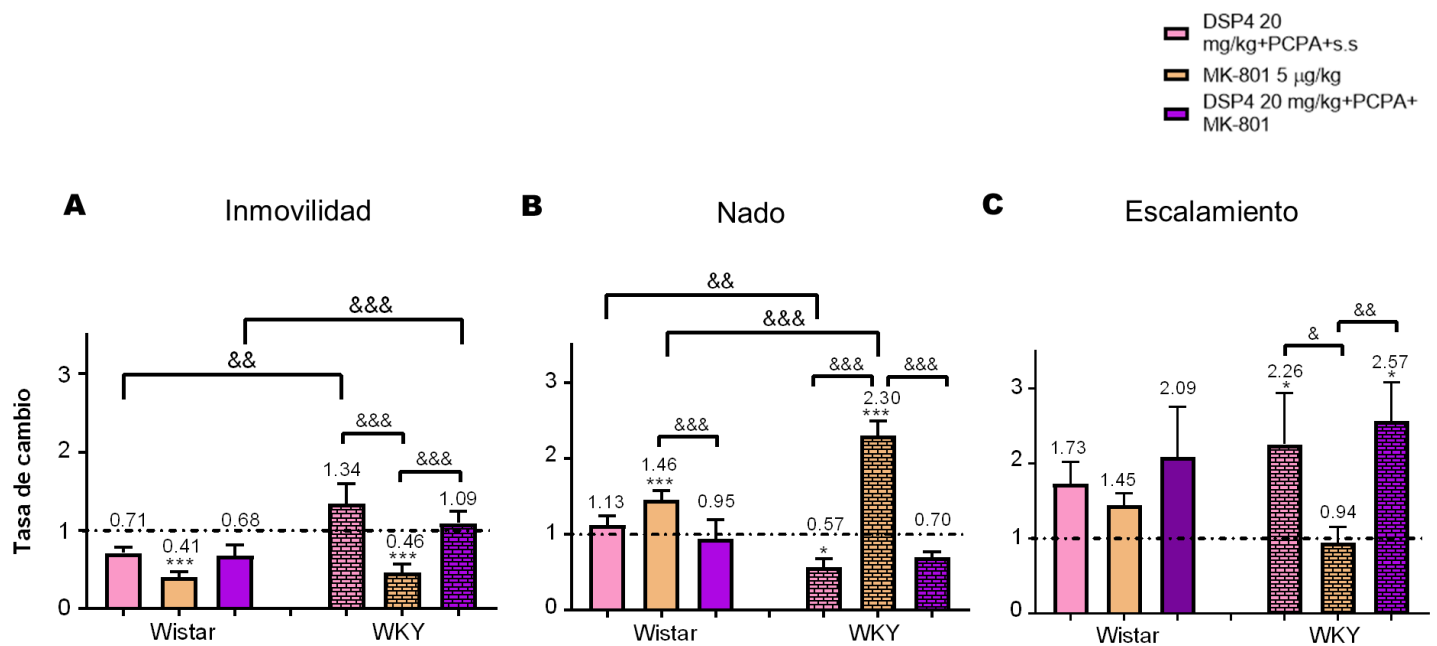
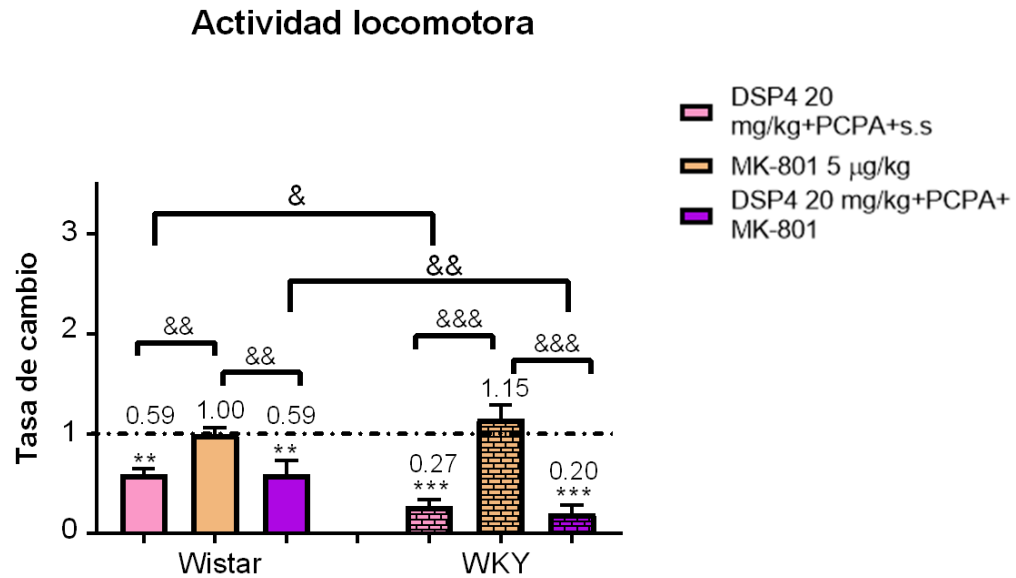


Figura 30 Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pretratados con DSP4 en combinación con PCPA en la prueba de nado forzado. **A:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de inmovilidad. **B:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de nado. **C:** Tasa de cambio con respecto al vehículo en la conducta de escalamiento. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*\*  $P < 0.01$  vs el vehículo. \*  $P < 0.05$  vs MK-801. \*\*\*  $P < 0.001$  vs MK-801. &  $P < 0.01$  vs el mismo grupo de la cepa contraria. &&  $P < 0.001$  vs el mismo grupo de la cepa contraria  $n = 6$  a  $10$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak



- **Actividad locomotora**



*Figura 31* Efecto de la administración aguda de MK-801 en animales pretratados con DSP4 en combinación con PCPA sobre la actividad locomotora expresado como tasa de cambio con respecto al grupo tratado con ambas neurotóxicas. Los datos representan las medias  $\pm$  e.e. \*\*  $P < 0.01$  vs vehículo. \*\*\*  $P < 0.001$  vs vehículo. &&  $P < 0.01$  vs MK-801. &&&  $P < 0.001$  vs MK-801. &  $P < 0.05$  vs el mismo grupo de la cepa contraria &&  $P < 0.01$  vs el mismo grupo de la cepa contraria.  $n=6$  a  $10$ . ANOVA de dos vías. Post-hoc Holm-sidak

En la figura 30 se observa el efecto de la neurotóxina DSP4 en combinación con PCPA y con MK-801. En la cepa Wistar se puede observar que sólo en el grupo administrado con MK-801 se redujo significativamente la conducta de inmovilidad (panel A), mientras que en los grupos que recibieron DSP4+ PCPA y DSP4+PCPA+MK-801 no se observaron cambios en esta conducta.

De igual manera en la cepa WKY el MK-801 reduce de manera significativa la inmovilidad, mientras que, en los grupos que recibieron las neurotoxinas solas o en combinación con MK-801 se observa un aumento significativo de la inmovilidad con respecto al grupo MK-801 pero no con respecto al vehículo.

La conducta de nado (Fig. 30 B) en la cepa Wistar aumenta significativamente en el grupo tratado con MK-801 mientras que en el grupo que recibió DSP4+PCPA no presenta cambios;

por otro lado, en el grupo que recibió la combinación de DSP4+PCPA+MK-801 se observa una reducción significativa de la conducta de nado con respecto al grupo tratado con MK-801 pero no con respecto al vehículo.

En la cepa WKY, el MK-801 provoca un aumento significativo en el nado, mientras que el grupo tratado únicamente con las neurotóxicas se reduce esta conducta de manera significativa con respecto al vehículo y con respecto al grupo tratado con MK-801; para el grupo que recibió los 3 fármacos se observa una reducción significativa de la conducta de nado con respecto al grupo que recibió MK-801.

Con respecto a la conducta de escalamiento en la cepa Wistar ninguno de los 3 tratamientos modificó de manera significativa esta conducta, en contraste, en la cepa WKY se observa un aumento significativo del escalamiento en el grupo administrados con DSP4+PCA y en el grupo tratado con DSP4+PCPA+MK-801 con respecto al vehículo y con respecto al grupo administrado con MK-801.

El ANOVA de dos vías la conducta de inmovilidad señala que las diferencias observadas entre los grupos se deben a la cepa ( $***F_{(1,54)} = 13.940$ ,  $p < 0.001$ ) y al tratamiento ( $***F_{(3,54)} = 16.196$ ,  $p < 0.001$ ), también que existe interacción entre ambos factores ( $*F_{(3,54)} = 4.139$ ,  $p = 0.035$ ). En cuanto a la conducta de nado el ANOVA nos señala que los efectos observados no dependen del factor cepa ( $F_{(1,54)} = 0.0165$ ,  $p = 0.898$ ), pero sí del factor tratamiento ( $***F_{(3,54)} = 36.523$ ,  $p < 0.001$ ), además existe interacción entre ambos factores ( $***F_{(3,54)} = 12.487$ ,  $p < 0.001$ ). Por último, los efectos observados en la conducta de escalamiento no se deben al factor cepa ( $F_{(1,54)} = 0.297$ ,  $p = 0.588$ ), pero si s dependen del tratamiento ( $***F_{(3,54)} = 7.577$ ,  $p < 0.001$ ), aunque no existe interacción entre ambos factores ( $F_{(3,54)} = 1.102$ ,  $p = 0.356$ ).

Finalmente, la actividad locomotora de ambas cepas (fig. 31) se redujo de manera significativa en aquellos grupos que recibieron las neurotóxicas solas (DSP4+PCPA) o en combinación con MK-801 con respecto al vehículo, así como con respecto al grupo administrado únicamente con MK-801.

El ANOVA de dos vías nos indica que los efectos observados en la actividad locomotora se deben al factor cepa (\*F<sub>(1,54)</sub> =6.250, p=0.015), y del factor tratamiento (\*\*\*F<sub>(3,54)</sub> =42.795, p<0.001), también existe interacción entre ambos factores (\*\*F<sub>(3,54)</sub> =5.376, p=0.003).

## VIII. DISCUSIÓN

### 1. Diferencias basales entre la cepa Wistar y WKY

La prueba de nado forzado induce en los roedores un estado de desesperanza conductual que se traduce en un incremento en la conducta tipo depresión (Porsolt y cols. 1978 ; Borsini & Meli, 1988; Livia Chiriță y cols., 2015). En el presente trabajo, al analizar la conducta basal de las dos cepas de ratas (Wistar y WKY) se encontró que la WKY presenta mayor conducta inmovilidad aunado a una menor conducta de escalamiento en comparación con la rata Wistar.

Estos resultados concuerdan con trabajos previos en los que, al compararse con otras cepas, la WKY es más propensa a desarrollar conducta tipo depresión tanto en la prueba de nado forzado (Griebel y cols., 1999; Lahmane & Armario, 1996; Rittenhouse y cols., 2002; Tejani-Butt y cols., 2003) como en modelos animales de depresión (Paré y col., 1994 y Nam y cols. 2014). Por ejemplo, se ha observado que la cepa WKY desarrolla una mayor conducta tipo anhedonia en la prueba de preferencia de sacarosa y despliega una mayor conducta de desesperanza cuando son sometidas a un shock eléctrico del que no hay escapatoria (Paré 1992; Paré 1994; De la Garza y cols 2004; Jiao y cols, 2011).

Además, las ratas WKY muestran otras diferencias en comparación con distintas cepas. Por ejemplo, tienen una hiperreactividad al estrés (Pare, 1989; Braw et al., 2006) por lo que presentan mayores niveles de corticosterona y ACTH en comparación con la cepa Sprague-Dawley (SD) y la cepa Wistar (Solberg y cols., 2001; Will y cols, 2003; Rittenhouse y cols, 2002). También se reporta que la cepa WKY al ser sometida a un estresor, tiene una desregulación a la baja de los sitios de unión del receptor 5-HT<sub>1A</sub> y del transportador de serotonina (SERT) en comparación con la cepa SD (Renoir y cols, 2012). Además, Scholl y cols (2010) reportaron que la cepa WKY presenta menores niveles de monoaminas (DA, NA y 5-HT) y de sus metabolitos en diversas áreas cerebrales como la amígdala basolateral, hipocampo y el núcleo accumbens en comparación con las cepas SD y Wistar.

Dado que la prueba de nado forzado se ha relacionado a las conductas de nado y escalamiento con la activación de los sistemas serotoninérgico y catecolaminérgico respectivamente (Detke & Lucki, 1996), es posible que la cepa WKY presente menor conducta de escalamiento debido

a la existencia de una menor concentración de noradrenalina y dopamina en áreas que han sido relacionadas con la regulación de la depresión (Scholl y cols, 2010). De hecho, se propone que estas disfunciones se relacionan directamente con la mayor propensión de la cepa WKY para desarrollar conducta tipo depresión (De La Garza & Mahoney, 2004; Scholl y cols, 2010).

En cuanto a la actividad locomotora, en el presente trabajo se observa que la cepa WKY tiene menor movilidad que la cepa Wistar en el modelo de campo abierto. Este resultado coincide con lo reportado en otros trabajos, que también utilizan la prueba de campo abierto, y observan que la cepa WKY presentó menor actividad que las cepas Wistar o SD (Paré 1994; Nam y cols, 2014; Burke y cols.2016).

Con estos resultados se puede concluir que en las condiciones experimentales de nuestro laboratorio se mantienen las características principales de la cepa WKY, es decir muestran mayor conducta tipo depresión y muestran una hiperreactividad a condiciones de estrés como el campo abierto.

Dado que en el presente trabajo uno de los principales objetivos fue el de comparar el efecto antidepresivo de diferentes compuestos en las dos cepas de rata, fue necesario normalizar los datos para poder contrastar los efectos de los compuestos en las cepas Wistar y WKY tanto en la prueba de nado forzado como en la prueba de actividad en el campo abierto.

A continuación, se discuten los resultados obtenidos con la administración de los diferentes fármacos en las dos cepas de ratas (Wistar y WKY).

## **2. Efecto antidepresivo del tratamiento agudo con MK-801**

Dado que en el presente trabajo se considera a la cepa Wistar como la cepa control, primero se analizará el efecto de los antidepresivos estudiados en esta cepa de ratas y posteriormente se contrastarán estos efectos con los producidos en la cepa WKY.

En este caso, la administración aguda de MK-801 en la cepa Wistar reduce la conducta de inmovilidad a las dosis de 5 y 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Esta reducción en la inmovilidad está acompañada de un aumento en la conducta de nado con ambas dosis, y un aumento en la conducta de escalamiento, sólo a la dosis de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Cabe señalar que a esta última dosis también se incrementa la actividad en la prueba de campo abierto. Por lo que a la dosis de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , más

que un efecto antidepresivo, se tiene un efecto inespecífico por el incremento en la actividad motora.

De acuerdo a lo reportado por Detke y cols. (1995) se puede sugerir que el MK-801 a la dosis de 5 µg/kg interactúa con el sistema serotoninérgico para mediar sus efectos antidepresivos. Mientras que a la dosis de 10 µg/kg podría interactuar también con el sistema catecolaminérgico ya que se incrementa la conducta de nado a la dosis de 5 µg/kg y la de escalamiento a la dosis de 10 µg/kg. Este incremento en la actividad catecolaminérgica a la dosis de 10 µg/kg también podría relacionarse con el aumento de la actividad motora observada en el campo abierto. En apoyo a esta hipótesis, se ha reportado que el MK-801 a dosis entre 0.01mg/kg a 0.3 mg/kg incrementa los niveles de DA y sus metabolitos y de NA y 5-HT en el núcleo accumbens en animales en libre movimiento (Hatip-Al-Khtib y cols., 2001). También incrementa la densidad del receptor 5-HT<sub>1A</sub> en la corteza prefrontal y en el hipocampo (Hatip-Al-Khtib y cols., 1999).

Otros autores han reportado efectos antidepresivos del MK-801 administrado de forma aguda en el modelo de nado forzado. Por ejemplo, Maj y cols. (1992) y Pruus y cols. (2010) observaron que el MK-801 reduce de manera dosis dependiente la conducta de inmovilidad. Sin embargo, en estos trabajos no se evaluaron las conductas activas en la prueba de nado forzado. Cabe señalar que Shepard y cols. en 2018 evaluaron el efecto de Ketamina (cuyo mecanismo de acción es similar al de MK-801) en la prueba de nado forzado. En este caso la ketamina redujo la conducta de inmovilidad aumentando significativamente la conducta de nado, lo cual coincide con los resultados que encontramos en este trabajo.

Con relación a la cepa WKY, la administración aguda de MK-801 también redujo la conducta de inmovilidad a las dosis de 5 y 10 µg/kg, aumentando la conducta de nado a ambas dosis sin afectar la de escalamiento. En a la cepa WKY no existen estudios previos que evalúen el efecto antidepresivo de MK-801. Únicamente, Tizabi y cols. (2012) evaluaron el efecto de la ketamina y reportaron una reducción de la conducta de inmovilidad de manera dosis dependiente, sin embargo, en este trabajo no se estudiaron las conductas activas.

Al comparar los resultados de MK-801 (agudo) entre las cepas se destacan dos diferencias importantes. La rata WKY, parece ser más sensible al efecto de MK-801 dado que el incremento en la conducta de nado es el doble de lo observado en la cepa Wistar, lo que podría sugerir que

la cepa WKY es más sensible a las acciones del MK-801. Por otra parte, el mecanismo de acción parece diferir en ambas cepas. Mientras que en la cepa Wistar el MK-801 activa tanto al sistema serotoninérgico como catecolaminérgico, en la cepa WKY sólo se activa el sistema serotoninérgico. Esto último se infiere tras la observación de las conductas activas. Para confirmar estas suposiciones se requieren realizar más experimentos que nos permitan evaluar la sensibilidad de las cepas a los efectos del fármaco.

Con respecto a la actividad locomotora en la cepa WKY el tratamiento agudo con MK-801 no produjo cambios significativos a ninguna de las dosis evaluadas. A pesar de que no existen reportes del efecto de MK-801 sobre la actividad locomotora de esta cepa, el efecto observado coincide con lo que también reportó Tizabi en 2012 en donde la administración de Ketamina no produjo alteraciones en la actividad exploratoria en animales WKY.

### **3. Efecto antidepresivo del tratamiento subcrónico con MK-801**

En cuanto al tratamiento subcrónico con MK-801 en la cepa Wistar la dosis de 5 µg/kg reduce la inmovilidad, aunque no se presentan cambios significativos en las conductas activas. Por otro lado, la actividad locomotora no se modificó con ninguna de las dosis administradas de MK-801.

En la cepa WKY tanto la dosis de 2.5 µg/kg como la de 5 µg/kg presenta un efecto tipo antidepresivo al reducir la conducta de inmovilidad e incrementar de manera significativa la conducta de nado en ambas dosis (de manera similar a lo observado con el tratamiento agudo). En la actividad locomotora no se observaron cambios significativos con ninguna de las dosis evaluadas.

No existen trabajos que evalúen los efectos de MK-801 en un esquema de administración subcrónico en la cepa Wistar o WKY. El único trabajo que reporta los efectos antidepresivos del tratamiento crónico con un antagonista no competitivo del receptor NMDA (en este caso Ketamina en la cepa WKY) es el realizado por Tizabi y cols. en 2012. En este estudio se observó una reducción en la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado después de 10 días de administración, sin embargo, no se evaluaron las conductas activas.

Como se mencionó anteriormente, los antagonistas del receptor NMDA tales como el MK-801 parecen ejercer su efecto antidepresivo a través de la estimulación del sistema serotoninérgico.

Apoyando esta idea, López-Gil y cols. (2012) demostraron que la administración sistémica de MK-801 o de ketamina incrementa el flujo de glutamato y 5-HT en la corteza media prefrontal (mPFC). Más tarde, el grupo de Pham y cols en 2017 comprobó la relación existente entre el sistema serotoninérgico y la acción antidepresiva de Ketamina en ratones de la cepa BALB / c. Este grupo demostró que cuando se induce la depleción de serotonina con la administración de p-clorofenilalanina (PCPA, inhibidor de la enzima triptófano hidroxilasa) se pierde el efecto antidepresivo observado con ketamina, confirmando que es necesaria la activación de la neurotransmisión serotoninérgica para que el antagonista NMDA ejerza sus efectos antidepresivos.

Otra posible explicación para la acción antidepresiva de MK-801 podría deberse a un efecto indirecto sobre los sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos. De acuerdo con Gerhard y cols. (2016), parte del mecanismo de acción del efecto antidepresivo de los antagonistas NMDA puede deberse a la desinhibición de las células piramidales como resultado del antagonismo de los receptores NMDA localizados en las interneuronas GABAérgicas, lo que permitiría que el tono excitador predominara resultando en una mayor liberación de monoaminas y con ello el restablecimiento del estado de ánimo.

Dada la similitud existente en el mecanismo de acción de MK-801 y ketamina, es posible que el MK-801 también interactúe con los receptores NMDA presentes en las neuronas GABAérgicas, estimulando principalmente la neurotransmisión serotoninérgica, lo que podría contribuir al efecto antidepresivo rápido observado con estos fármacos.

#### **4. Efecto de los antidepresivos desipramina y sertralina en ratas Wistar y WKY.**

Para poder evaluar el efecto antidepresivo de MK-801 en combinación con un antidepresivo noradrenérgico (DMI) o un antidepresivo serotoninérgico (sertralina) primero se determinó si los fármacos administrados por separado presentaban efecto tipo antidepresivo en ambas cepas bajo nuestras condiciones experimentales. Además, se determinaron las dosis subóptimas de ambos fármacos que serían utilizadas en combinación con el MK-801. A continuación, se discutirá el efecto del tratamiento con desipramina y posteriormente el tratamiento con sertralina.



#### **4.1. Tratamiento subcrónico con desipramina en ratas Wistar y WKY.**

La desipramina presenta un efecto tipo antidepresivo en la cepa Wistar al observarse una reducción de la conducta de inmovilidad de aproximadamente el 50% a la dosis de 5 mg/kg. Esta reducción en la inmovilidad se acompaña de un aumento en el escalamiento, efecto que de acuerdo con Detke y Lucki (1996) se debe a la estimulación de los sistemas catecolaminérgicos.

En contraste, la cepa WKY parece ser más sensible al efecto de desipramina debido a que con las dosis de 2.5 mg/kg y 5 mg/kg se observa una reducción en la conducta de inmovilidad hasta de un 30% aproximadamente. Simultáneamente la conducta de escalamiento se duplica y triplica a las dosis de 2.5 y 5.0 mg/kg respectivamente. Estos resultados indican que la cepa WKY es más sensible a las acciones de desipramina que la cepa Wistar.

No se han reportado diferencias en los niveles NA en la mPFC, estriado, amígdala basolateral y núcleo accumbens entre las cepas Wistar y WKY en condiciones basales (Scholl, y cols., 2010). Sin embargo, se observó una disminución en la expresión del transportador de noradrenalina (NET) en la amígdala de ratas WKY en comparación con ratas Wistar (Scholl, y cols., 2010). Y más aún, cuando los animales son sometidos a estrés se observa un mayor aumento en la expresión de genes que codifican para la síntesis y metabolismo de NA en el locus coeruleus de ratas WKY en comparación con ratas Sprague Dawley (Scholl, y cols., 2010).

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, los cambios inducidos por el estrés agudo como el nado forzado podrían provocar un aumento en la liberación de NA al existir un sistema de recaptura deficiente. Este efecto aunado al bloqueo del NET ejercido por la desipramina, podría explicar la mayor potencia de la DMI en ratas WKY en comparación con las Wistar y la mayor sensibilidad de la cepa WKY a los efectos de DMI.

Cabe mencionar que otros autores han comparado el efecto de DMI en WKY con otras cepas de ratas y sus resultados difieren a lo encontrado en este trabajo. Por ejemplo, López-Rubalcava & Lucki (2000) no encontraron diferencias en el efecto de DMI entre ratas WKY y SD; mientras que Lahmame y Armario (1996) reportaron una menor sensibilidad a desipramina de la cepa WKY en comparación con las cepa Brown-Norway y SD (Lahmame and Armario,1996; Will y cols 2003). Aunque en ambos trabajos se utilizó el mismo esquema de administración utilizado

en el presente trabajo, la vía de administración fue distinta (subcutánea). Es posible que la vía de administración influya sobre el efecto antidepresivo observado en la cepa WKY. Otra posibilidad es que dada la variabilidad genética que le confieren distintas características a cada cepa sea posible observar más diferencias al comparar contra la cepa Wistar que contra otras cepas de rata (Strong y cols., 2003). En trabajos futuros será necesario estudiar estas diferencias específicas en más de una cepa de ratas.

#### **4.2 Efecto antidepresivo del tratamiento subcrónico con sertralina**

En cuanto a los efectos observados con sertralina, de las tres dosis evaluadas, sólo la dosis de 5 mg/kg presentó efecto tipo antidepresivo en la cepa Wistar (disminuye en un 60% la inmovilidad con respecto al control). Simultáneamente se observa un aumento significativo en la conducta de nado (hasta de un 178%). Este resultado concuerda con lo reportado por Detke & Lucki, 1996, en donde se postula que aquellos fármacos que actúan sobre el sistema serotoninérgico disminuyen la conducta de inmovilidad a costa de un aumento de la conducta de nado.

Con relación a la cepa WKY, sertralina a las dosis de 2.5 mg/kg y 5 mg/kg disminuye la conducta de inmovilidad y aumenta la conducta de nado. Siendo la WKY más sensible al efecto de dicho fármaco, ya que a menores dosis se observan efectos tipo antidepresivos. También, la dosis de 5 mg/kg es más potente en WKY que en Wistar ya que en la primera se reduce en un 70 % la inmovilidad, mientras que en las ratas Wistar se reduce en un 40%.

Es importante señalar que otros trabajos en los que se comparan antidepresivos serotoninérgicos (como fluoxetina y 8-OH-DPAT), la cepa WKY es menos sensible a los efectos antidepresivos de estos compuestos (Griebel, y cols., 1999; López-Rubalcava & Lucki, 2000). Esta discrepancia entre los resultados del presente trabajo y lo reportado por otros grupos, posiblemente se deba a que sertralina presenta una mayor selectividad por el transportador de serotonina (SERT) que fluoxetina, (pKi: 9.1 vs 8.5 respectivamente, de acuerdo con la UIPHAR, 2018) por lo que probablemente a pesar de las disfunciones propias de la cepa WKY en el sistema serotoninérgico, debido a la mayor afinidad de sertralina, sea posible observar un efecto antidepresivo en los animales. Se requerirán más trabajos específicos que analicen las diferencias entre distintos antidepresivos serotoninérgicos en la cepa WKY.

## **5. Efecto de la combinación de dosis subóptimas de DMI o Sertralina con MK-801 en las cepas Wistar y WKY.**

En la cepa Wistar no encontramos efectos significativos sobre la conducta de inmovilidad al combinar dosis subóptimas de MK-801 con desipramina o sertralina. Sólo se observa un aumento significativo de la conducta de nado con la combinación de sertralina y MK-801. Con ninguno de los tratamientos se ve modificada la actividad locomotora de los animales.

Existen dos trabajos en los cuales se han evaluado los efectos de otros antidepresivos clásicos en combinación con MK-801. El primero fue realizado en 1992 por el grupo de Maj, en este trabajo se observó que al administrar MK-801 a dosis de 0.05 o 0.1 mg/kg con citalopram (ISRS) o con imipramina (inhibidor de la recaptura de 5-HT y NA), se mejora el efecto de los fármacos antidepresivos, lo que se ve reflejado como una reducción mayor de la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Sin embargo, estas combinaciones de fármacos también indujeron un aumento sobre la actividad locomotora en la prueba de campo abierto. Por lo que más que un efecto antidepresivo se observó un efecto inespecífico sobre la actividad general.

El segundo trabajo fue el realizado por Pruus y cols. en 2010, en este caso la dosis de MK-801 utilizada fue de 0.1 mg/kg. Se observó que al combinar fluoxetina o citalopram (ambos ISRS) con MK-801 se reducía la conducta de inmovilidad, pero la combinación de desipramina o maprotilina (ambos antidepresivos noradrenérgicos) con MK-801 resultó inefectiva en la prueba de nado forzado. Ambos trabajos anteriormente mencionados fueron realizados en la cepa Wistar, y difieren de los observado en nuestro trabajo, ya que tanto la combinación DMI+ MK-801 como Sertralina+ MK-801, no tienen efecto antidepresivo en esta cepa. Las discrepancias probablemente se deban a que las dosis utilizadas en los trabajos de Maj y Pruus son mayores a las utilizadas en la presente tesis, y debido a lo cual las concentraciones tanto de MK-801 como de los antidepresivos no sean suficientes para promover un efecto antidepresivo.

En la cepa WKY tanto la combinación de DMI con MK-801 como sertralina con MK-801 redujeron la inmovilidad a costa de un aumento significativo en la conducta de nado. No existen trabajos previos que hayan evaluado estas combinaciones en la cepa WKY. Es posible que los efectos observados se deban a la aparente mayor sensibilidad que presentó la cepa WKY al efecto de los fármacos solos. Se sabe que la administración aguda de MK-801 activa a las

neuronas serotoninérgicas e incrementa los niveles de serotonina en la mPFC (López-Gil y cols., 2012) y cómo se mencionó anteriormente, el sistema serotoninérgico parece estar involucrado en los efectos antidepresivos inducidos por MK-801. Por otro lado, la sertralina al ser un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina, induce un aumento en los niveles de este neurotransmisor, por lo tanto, la administración concomitante de dosis subóptimas de sertralina y MK-801, parece tener un efecto sinérgico, lo que se traduce como un mayor efecto sobre la conducta de nado y una menor inmovilidad comparado con los efectos de los fármacos por separado.

El aumento en la conducta de nado observado con la administración de la combinación de DMI+ MK-801 en la cepa WKY, podría deberse a una mayor estimulación de la neurotransmisión serotoninérgica. Cabe mencionar que el DMI a pesar de ser prevalentemente un inhibidor de la recaptura de noradrenalina, también presenta afinidad por SERT ( $pK_i = 7.7$  en ratas de acuerdo con la IUPHAR), lo que podría contribuir a un aumento de la transmisión serotoninérgica con esta combinación, y lo que explicaría por qué esta combinación aumenta la conducta de nado y no la de escalamiento en la prueba de nado forzado.

## **6. Análisis de la participación de los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico en el efecto antidepresivo de MK-801**

Dado que la administración aguda de MK-801 mostró un incremento de conductas activas en ambas cepas, principalmente de la conducta de nado en la cepa WKY, se trató de verificar la participación del sistema serotoninérgico. Para ello se utilizó a la p-clorofenilalanina o PCPA, compuesto que depleta selectivamente a las neuronas serotoninérgicas de su neurotransmisor tras inhibir a la enzima triptófano hidroxilasa (Koe & Weissman, 1966; Dringenberg y cols, 1995). También se analizó la combinación de PCPA con DSP4, que es una neurotoxina parcialmente selectiva para las neuronas noradrenérgicas (Ross y cols, 2015).

Antes de analizar el efecto de PCPA sobre las acciones antidepresivas del MK-801 fue necesario evaluar el efecto *per se* de la administración de PCPA sola y en combinación con DSP4 en las dos cepas de ratas.

En este caso, en la cepa Wistar, el PCPA no modificó las conductas de inmovilidad y de escalamiento, mientras que la de nado se reduce ligeramente en un 34%. Estos resultados

coinciden con lo reportado previamente por diferentes grupos de investigación que señalan que la disminución en la concentración de serotonina inducida por PCPA no modifica la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado (Cervo y cols., 1991; Page y cols., 1999; Polezak y cols., 2007; Mostalac-Preciado y cols., 2011), sugiriendo que la serotonina *per se* no induce la conducta tipo depresión, pero sí es importante en la mediación de los efectos antidepresivos de algunos fármacos como los ISRS. Al combinar PCPA con la neurotoxina DSP4 se disminuye la conducta de inmovilidad en un 29%, principalmente a costa de un incremento en la conducta de escalamiento (73%) y de un ligero incremento en la conducta de nado (13%). Como se comentó anteriormente, la conducta de escalamiento está regulada por las catecolaminas NA y DA. A la dosis utilizada de DSP4 se reduce la concentración de NA en un 70% (Cheetham y cols., 2010), mientras que PCPA (a la dosis utilizada) disminuye la serotonina en un 80% (Aghajanian y cols., 1973; Vergnes y cols., 1986). Es posible que la disminución simultánea tanto de NA como de serotonina incremente la actividad dopaminérgica y por ello se aumente la conducta de escalamiento. Serán necesarios más estudios que nos permitan estudiar directamente la participación de la DA en este efecto.

En la cepa WKY, el PCPA por si solo redujo de manera significativa la conducta de inmovilidad (en un 64%) a costa de un importante incremento en la conducta de escalamiento (del 230%) y sin modificar el nado. En la cepa WKY no encontramos reportes previos que utilicen PCPA, sin embargo, se ha reportado que esta cepa presenta niveles basales significativamente mayores de NA y DA en regiones límbicas comparados con otras cepas de ratas (Wistar y Sprague-Dawley) (De La Garza & Mahoney, 2004; Scholl y cols., 2010). Es posible que en la cepa WKY, al depletar la serotonina, las catecolaminas presentes en mayor concentración contribuyan a inducir el efecto tipo antidepresivo observado con la administración de PCPA, aumentando la conducta de escalamiento. De hecho, se ha reportado que la serotonina inhibe el disparo de neuronas dopaminérgicas en áreas como la substantia nigra (Fibiger & Miller, 1977; Kapur & Remington, 1996). Por lo tanto, al disminuir la serotonina se podría quitar el freno sobre la actividad dopaminérgica, esto aunado con las concentraciones altas de DA se podría incrementar la conducta de escalamiento. De hecho, la administración de DSP4 no modifica este efecto, apoyando la idea de que es la DA la que media este incremento en el escalamiento. Sin embargo, serán necesarios más estudios que permitan verificar esta hipótesis.

Con respecto a los efectos tipo antidepresivos de MK-801 en la rata Wistar, el PCPA no bloquea sus efectos sobre las conductas de inmovilidad y nado. De hecho, la combinación de PCPA con MK-801 incrementa significativamente la conducta de escalamiento. Este incremento podría deberse a la estimulación sobre neuronas dopaminérgicas del MK-801 ya que la combinación de PCPA+DSP4 no logra bloquear este incremento en el escalamiento, descartando así la participación noradrenérgica en este efecto. Es posible que el bloqueo de la actividad serotoninérgica quite el freno en la actividad dopaminérgica y junto con la actividad catecolaminérgica del MK-801 logren incrementar significativamente la conducta de escalamiento, efecto que es parcialmente disminuido con la administración de DSP4. Por lo tanto, podríamos suponer que en la rata Wistar tanto la serotonina como NA y DA participan en la acción antidepresiva del MK-801.

En la cepa WKY se puede ver que el PCPA no modifica los efectos del MK-801 en la conducta de inmovilidad, sin embargo, sí bloquea el incremento de la conducta de nado inducido por MK-801. Este bloqueo, al igual que en la cepa Wistar, nos confirma la participación del sistema serotoninérgico en los efectos del MK-801. La razón por la que la conducta de inmovilidad permaneciera disminuida estaría relacionada con el incremento en la conducta de escalamiento que induce el PCPA por sí mismo en esta cepa de rata. Cabe mencionar que el MK-801 no modificó el efecto de PCPA per se y que la combinación de DSP4+PCPA+MK-801 tiene el mismo efecto que PCPA +MK-801. Por lo tanto, podríamos descartar la participación noradrenérgica en las acciones de PCPA como en las acciones de MK-801, más bien se sugiere la participación de la actividad dopaminérgica.

En resumen, la depleción de serotonina nos permite evidenciar la participación de este sistema de neurotransmisión en el mecanismo de acción del MK-801 en ambas cepas de ratas. Sin embargo, no nos fue posible evidenciar la participación noradrenérgica con los tratamientos combinados de PCPA + DSP4. La principal razón por la que no lo pudimos descartar es por los efectos del PCPA sobre el sistema dopaminérgico. Sobre todo, en la cepa WKY que fue más sensible a las acciones del PCPA que indujo un incremento en la actividad dopaminérgica, evidenciado por el incremento de la conducta de escalamiento, misma que no fue bloqueada con la administración de DSP4.

Desafortunadamente no se cuentan con reportes en la literatura que evalúen el efecto de la combinación de PCPA y DSP4 en la prueba de nado forzado, y el efecto de esta combinación sobre el efecto antidepresivo de MK-801. Pero los resultados apuntan a que al inhibir los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico, posiblemente el MK-801 estimule al sistema dopaminérgico para ejercer su efecto antidepresivo. En futuros trabajos podría investigarse el papel del sistema dopaminérgico en el efecto antidepresivo de MK-801 a través de alguna neurotóxina específica para este sistema, además de evaluar si el efecto antidepresivo de MK-801 se abole completamente al combinar las neurotóxinas que afectan a los 3 sistemas de neurotransmisión.

Por otra parte, la actividad locomotora de los animales tratados con PCPA y con la combinación de PCPA y MK-801 en ambas cepas se redujo significativamente con respecto al vehículo y al grupo administrado sólo con MK-801. Se sabe que la serotonina controla diferentes funciones dentro de las cuales se encuentran la actividad general, los mecanismos de alerta y regulación del ciclo sueño–vigilia (Jouvet y cols, 1972; Soubrie y cols, 1986). Dringenberg y cols, 1995, reportó que el PCPA induce una reducción en la actividad exploratoria de los animales, lo cual coincide con los efectos observados sobre la actividad locomotora en este trabajo. Sin embargo, esta reducción en la actividad general no influye sobre los efectos observados en la prueba de nado forzado ya que se observa un incremento en las conductas activas en la prueba de nado forzado. De hecho, muchos antidepresivos disminuyen la actividad general en el campo abierto, pero aún así tienen claramente efectos antidepresivos en la prueba de nado forzado (Detke y cols., 1995)

Por último, la actividad locomotora de los animales de ambas cepas se redujo de manera significativa en aquellos grupos que recibieron el tratamiento con DPS+PCPA+MK-801 con respecto al grupo administrado con MK-801 y con respecto al grupo administrado únicamente con ambas neurotoxinas. Se ha reconocido en diversos trabajos la importancia de la neurotransmisión noradrenérgica sobre la actividad motora de los animales, en donde se ha observado que al inducir lesiones en las terminales noradrenérgicas del LC se reduce la actividad locomotora (Heybach y cols., 1978; Owen y cols., 1982; Ogren y cols., 1983; Britton y cols., 1984; Archer & Fredriksson, 2003). Estos reportes coinciden con lo observado en este trabajo en ambas cepas, además, como se mencionó anteriormente, la reducción de los niveles

de serotonina también producen un estado de hipoactividad en los animales, razón por la cual, la combinación de neurotoxinas probablemente cause una reducción mayor de la actividad locomotora comparada con la reducción de la actividad observada al administrar únicamente PCPA en ambas cepas.



## **IX. CONCLUSIONES**

El MK-801 tanto agudo como subcrónico induce efectos antidepresivos en ambas cepas evaluadas, siendo la cepa WKY más sensible a la administración subcrónica del compuesto.

Se propone que la neurotransmisión serotoninérgica participa en las acciones antidepresivas del MK-801 ya que incrementa la conducta de nado y este efecto se bloquea al depletar la serotonina.

La cepa WKY fue más sensible al efecto de los antidepresivos DMI y Sertralina administrados de manera subcrónica, ya que sus efectos se observan a dosis menores a las utilizadas en la cepa Wistar. Incluso los efectos de ambos fármacos fueron más potentes en la rata WKY.

Tanto la combinación de DMI+MK-801 como la de Sertralina+MK-801 aumentaron la conducta de nado únicamente en la cepa WKY, por lo cual el efecto antidepresivo de las combinaciones farmacológicas parece estar mediado principalmente por el sistema serotoninérgico.

La inhibición de los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico, aparentemente estimula un mecanismo compensatorio a través del sistema dopaminérgico, que permite que aún bajo estas condiciones el MK-801 presente efectos antidepresivos en ambas cepas.

## **X. PERSPECTIVAS**

Determinar el efecto de la administración aguda y subcrónica de MK-801 sobre la liberación de monoaminas en áreas cerebrales involucradas en la depresión (por ejemplo, el hipocampo, amígdala y corteza prefrontal) en ambas cepas

Determinar la importancia del sistema dopaminérgico sobre el efecto tipo antidepresivo de MK-801, lesionando este sistema por medio de la administración de una neurotóxina específica (por ejemplo, la 6-OHDA) en ambas cepas.

Determinar el efecto de la administración de MK.801 sobre los niveles séricos de corticosterona en ambas cepas en un esquema de administración agudo y subcrónico. Dado que el estrés juega un papel importante en el desarrollo y mantenimiento de la depresión, sería importante evaluar si el MK-801 ayuda a disminuir los niveles de corticosterona que se encuentran aumentados en la cepa WKY

## XI. BIBLIOGRAFIA

Aghajanian , G.K. , Kuhar , M.J. and Roth , R.H. ( 1973 ) Serotonin- containing neuronal perikarya and terminals: differential effects of P-chlorophenylalanine . *Brain Research*. 54 : 85 – 101 .

Altamura, C., Maes, M., Dai, J., & Meltzer, H. Y. (1995). Plasma concentrations of excitatory amino acids, serine, glycine, taurine and histidine in major depression. *European Neuropsychopharmacology*, 5(SUPPL. 1), 71–75. [https://doi.org/10.1016/0924-977X\(95\)00033-L](https://doi.org/10.1016/0924-977X(95)00033-L).

American Psychiatric Association, 5ta edición Arlington, VA, 2014. Manual Diagnostico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-5), 5ta edición Arlington, VA,2014, editorial Panamericana. Pág. 155-188.

Anand, A., Li, Y., Wang, Y., Wu, J., Gao, S., Bukhari, L. Lowe, M. J. (2005). Activity and connectivity of brain mood regulating circuit in depression: A functional magnetic resonance study. *Biological Psychiatry*, 57(10), 1079–1088. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.021>.

Andrey, S. C., & Jaime, F. T. (2009). *Neurobiología de la depresión 2.*, 462–478.

Archer T, Fredriksson A .(2003) An antihypokinesic action  $\alpha$ 2-adrenoceptors upon MPTP-induced behaviour deficits in mice. *J Neural Transm.* ;110:183–200.

Ashley Holloman, C. A. M. (2018). Neurotoxins: Definition, Epidemiology, Etiology. Retrieved March 7, 2019, from <https://emedicine.medscape.com/article/1743954-overview>.

Bartanusz, V., Aubry, J. M., Pagliusi, S., Jezova, D., Baffi, J., & Kiss, J. Z. (1995). Stress-induced changes in messenger RNA levels of N-methyl-d-aspartate and AMPA receptor subunits in selected regions of the rat hippocampus and hypothalamus. *Neuroscience*, 66(2), 247–252. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00084-V](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00084-V).

Barygin, O. I., Nagaeva, E. I., Tikhonov, D. B., Belinskaya, D. A., Vanchakova, N. P., & Shestakova, N. N. (2017). Inhibition of the NMDA and AMPA receptor channels by antidepressants and antipsychotics. *Brain Research*, 1660, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.01.028>.

Belló, M., Psic, L., Puentes-rosas, E., C, M., Medina-mora, M. E., Psic, D.Lozano, R. (2005). Prevalencia y diagnóstico de depresión en población adulta en México, 47.

Berman, R. M., Cappiello, A., Anand, A., Oren, D. a, Heninger, G. R., Charney, D. S., & Krystal, J. H. (2000). Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Society of Biological Psychiatry*, 47(4), 351–354. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00230-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00230-9).

Borsini, F., & Meli, A. (1988). *Psychopharmacology* Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity, 147–160.

Braw, Y., Malkesman, O., Merlender, A., Bercovich, A., Dagan, M., Maayan, R., Weizman, A., Weller, A., (2006). Stress hormones and emotion-regulation in two genetic animal models of depression. *Psychoneuroendocrinology* 31, 1105–1116.

Britton DR, Ksir C, Britton KT, Young D, Koob GF. (1984) Brain norepinephrine depleting lesions selectively enhance behavioral responsiveness to novelty. *Physiology and Behavior* 33:473–8.

Bruton, L., Cabner, B., Knollman, B. (2013). Goodman & Gilman; Las bases farmacológicas de la terapéutica. *Journal of Chemical Information and Modeling*. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>.

Burke, N. N., Coppinger, J., Deaver, D. R., Roche, M., Finn, D. P., & Kelly, J. (2016). Sex differences and similarities in depressive- and anxiety-like behaviour in the Wistar-Kyoto rat. *Physiology and Behavior*, 167, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.08.031>.

Callado, L. F., Hopwood, S. E., Hancock, P. J., & Stamford, J. a. (1999). Effects of dizocilpine (MK 801) on noradrenaline, serotonin and dopamine release and uptake. *Neuroreport*, 11(1), 173–6. <https://doi.org/10.1097/00001756-200001170-00034>.

Caraci, F., Calabrese, F., Molteni, R., Bartova, L., Dold, M., Leggio, G. M., Drago, F. (2018). International Union of Basic and Clinical Pharmacology CIV: The Neurobiology of Treatment-resistant Depression: From Antidepressant Classifications to Novel Pharmacological Targets. *Pharmacological Reviews*, 70(3), 475–504. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014977>.

Carlsson, M. and A. Carlsson, (1990), Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia - implications for schizophrenia and Parkinson's disease, *Trends in Neurosciences*, 13, 272.

Carreto, M. (2002). *Medicamentos de vanguardia*, 21, 162–165.

Cervo L, Grignaschi G, Rossi C, Samanin R (1991) Role of sero- tonergic neurons in the effect of sertraline in rats in the forced swimming test. *European Journal of Pharmacology* 196:217 222.

Chalikiopoulos, A. (2013). NMDA Antagonism in the treatment of Major Depressive Disorder.

Cheetham, S. C., Viggers, J. A., Butler, S. A., Prow, M. R., & Heal, D. J. (1996). [3H]nisoxetine - A radioligand for noradrenaline reuptake sites: Correlation with inhibition of [3H]noradrenaline uptake and effect of DSP-4 lesioning and antidepressant treatments. *Neuropharmacology*, 35(1), 63–70. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(95\)00134-4](https://doi.org/10.1016/0028-3908(95)00134-4).

Ciraulo, D. A., & Shader, R. I. (2011). *Pharmacotherapy of depression: Second edition*. *Pharmacotherapy of Depression: Second Edition*. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-435-7>.

De La Garza, R., & Mahoney, J. J. (2004). A distinct neurochemical profile in WKY rats at baseline and in response to acute stress: Implications for animal models of anxiety and depression. *Brain Research*, 1021(2), 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.06.052>.

De León, E. C.-, Patricia, M., Uribe, O., & Gómez, C. S. (2008). Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISR-5HT), 31(4), 307–319.

Dean, J., & Keshavan, M. (2017). The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian Journal of Psychiatry*, 27(2017), 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2017.01.025>.

Dennis S. Charney, Eric J. Nestler, Joseph D. Buxbaum, and Pamela Sklar, 4ta. Edición ,(2013). *Neurobiology of mental illness*. New York, USA, Editorial Oxford. Pág. 365-508

Detke, M. J., & Lucki, I. (1996). Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behavioural Brain Research*, 73(1–2), 43–46. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(96\)00067-8](https://doi.org/10.1016/0166-4328(96)00067-8).

Detke, M. J., Rickels, M., & Lucki, I. (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 121(1), 66–72. <https://doi.org/10.1007/BF02245592>.

Deutschenbaur, L., Beck, J., Kiyhankhadiv, A., Mühlhauser, M., Borgwardt, S., Walter, M., Lang, U. E. (2016). Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, 325–333. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.02.015>.

Dringenberg, H. C., Hargreaves, E. L., Baker, G. B., Cooley, R. K., & Vanderwolf, C. H. (1995). p-Chlorophenylalanine-induced serotonin depletion: reduction in exploratory locomotion but no obvious sensory-motor deficits. *Behavioural Brain Research*, 68(2), 229–237. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)00174-E](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)00174-E).

Duman, R. S. (2014). Neurobiology of stress, depression, and rapid acting antidepressants: Remodeling synaptic connections. *Depression and Anxiety*, 31(4), 291–296. <https://doi.org/10.1002/da.22227>.

Duvarci, S., Paré, D., (2007). Glucocorticoids enhance the excitability of principal basolateral amygdala neurons. *Journal of Neuroscience* 27 (16), 4482–4491.

Ellison , G.D. and Bresler , D.E. ( 1974 ) Tests of emotional behavior in rats following depletion of norepinephrine, of serotonin, or of both . *Psychopharmacology*, 34 : 275 – 288.

Entringer, S., Kumsta, R., Nelson, E. L., Hellhammer, D. H., Wadhwa, P. D., & Wüst, S. (2008). Influence of prenatal psychosocial stress on cytokine production in adult women. *Developmental psychobiology*, 50(6), 579-87.

Ferrari, F., & Villa, R. F. (2017). The Neurobiology of Depression: An Integrated Overview from Biological Theories to Clinical Evidence. *Molecular Neurobiology*, 54(7), 4847–4865. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0032>.

Ferrés-Coy, A., Pilar-Cuellar, F., Vidal, R., Paz, V., Masana, M., Cortés, R., Carmona, M. C., Campa, L., Pazos, A., Montefeltro, A., Valdizán, E. M., Artigas, F. Bortolozzi, A. (2013). RNAi-

mediated serotonin transporter suppression rapidly increases serotonergic neurotransmission and hippocampal neurogenesis. *Translational psychiatry*, 3(1), e211. doi:10.1038/tp.2012.135.

Fibiger, H. C., & Miller, J. J. (1977). An anatomical and electrophysiological investigation of the serotonergic projection from the dorsal raphe nucleus to the substantia nigra in the rat. *Neuroscience*, 2(6), 975–987. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(77\)90120-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(77)90120-8).

Fisiología Médica de Ganong. Barrett, K. E., Brooks, H. L., Boitano, S., & Barman, S. M. (2013).

Flores-Soto, M. E., Chaparro-Huerta, V., Escoto-Delgadillo, M., Vazquez-Valls, E., González-Castañeda, R. E., & Beas-Zarate, C. (2012). Estructura y función de las subunidades del receptor a glutamato tipo NMDA. *Neurología*, 27(5), 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2011.10.014>.

Gao, Z. Y., Yang, P., Huang, Q. J., & Xu, H. Y. (2016). The influence of dizocilpine on the reserpine-induced behavioral and neurobiological changes in rats. *Neuroscience Letters*, 614, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.01.006>.

Gerhard, D. M., Wohleb, E. S., & Duman, R. S. (2016). Emerging treatment mechanisms for depression: focus on glutamate and synaptic plasticity. *Drug Discovery Today*, 21(3), 454–464. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.01.016>.

Gold, P. W. (2014). The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. *Molecular Psychiatry*, 20, 32. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2014.163>.

Griebel, G. U. Y., Cohen, C., Perrault, G., & Sanger, D. J. (1999). Behavioral Effects of Acute and Chronic Fluoxetine in Wistar – Kyoto Rats, *Physiology and Behavior*, 67(3), 315–320.

Grigor, G. A., & Gulyaeva, N. V. (2017). Modeling Depression in Animals: Behavior as the Basis for the Methodology , Assessment Criteria , and Classification, 47(2), 204–216. <https://doi.org/10.1007/s11055-016-0386-7>.

Hatip-Al-khati, I., Bolukbasi, F., Mishima, K., Egashira, N., Iwasaki, K., & Fujiwara, M. (2001). Role of dopaminergic system in core part of nucleus accumbens in hyperlocomotion and rearing induced by MK-801 in rats: a behavioral and in vivo microdialysis study. *Japanese Journal of Pharmacology*, 87(4), 277–287. <https://doi.org/10.1254/jjp.87.277>.

Hatip-Al-Khatib, I., & Bolukbasi, F. (1999). Destruction of the noradrenergic system with DSP4 potentiates the behavioral effects of MK-801 in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 62(2), 233–237. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(98\)00169-5](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(98)00169-5).

Heal DJ, Butler SA, Prow MR, Buckett WR (1993) Quantification of presynaptic alpha-2-adrenoceptors in rat brain after short-term DSP-4 lesioning. *European Journal of Pharmacology*, 249:37–4.1

Heim, C., & Binder, E. B. (2012). Current research trends in early life stress and depression: Review of human studies on sensitive periods, gene-environment interactions, and epigenetics. *Experimental Neurology*, 233(1), 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.10.032>.

Hennessy, M. B., Deak, T., & Schiml-Webb, P. A. (2009). Early attachment-figure separation and increased risk for later depression: potential mediation by proinflammatory processes. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 34(6), 782-90.

Hernandez-Baltazar, D., Zavala-Flores, L. M., & Villanueva-Olivo, A. (2017). El modelo de 6-hidroxidopamina y la fisiopatología parkinsoniana: nuevos hallazgos en un viejo modelo. *Neurología*, 32(8), 533–539. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2015.06.011>.

Heshmati, M., & Russo, S. J. (2015). Anhedonia and the brain reward circuitry in depression *Current Behavioural Neuroscience Reports*, 2(3), 146–153. <https://doi.org/10.1007/s40473-015-0044-3>.

Heybach JP, Coover GD, Lints CE. (1978) Behavioral effects of neurotoxic lesions of the ascending monoamine pathways in the rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92:58–70.

Hillhouse, T. M., & Porter, J. H. (2015). A brief history of the development of antidepressant drugs: from monoamines to glutamate. *Experimental and clinical psychopharmacology*, 23(1), 1-21.

Holmes, A., Yang, R. J., Murphy, D. L., and Crawley, J. N. (2002), "Evaluation of antidepressant-related behavioral responses in mice lacking the serotonin transporter," *Neuropsychopharmacology*, 27, No. 6, 914–923.

Inegi. (2015). Encuesta Nacional Hogares 2013., 112.

Jeon, S., & Kim, Y.-K. (2016). Molecular Neurobiology and Promising New Treatment in Depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3), 381. <https://doi.org/10.3390/ijms17030381>.

Jequier, E., Lovenberg, W. and Sjoerdsma, A. (1967) Tryptophan hydroxylase inhibition: the mechanism by which p-chloro-phenylalanine depletes rat brain serotonin. *Molecular Pharmacology*, 3: 274 – 278.

Jiao, X., Beck, K., Pang, K. C. H., & Servatius, R. J. (2011). Animal Models of Anxiety Vulnerability-The Wistar Kyoto Rat. *Different Views of Anxiety Disorders*, 96–120. <https://doi.org/10.5772/18462>.

Jonsson G, Hallman H, Ponzio F, Ross S (1981) DSP4 (N-(2- chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine a useful denervation tool for central and peripheral noradrenaline neurons. *European Journal of Pharmacology* 72:73–188.

Jouvet, M., (1972) The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle, *Ergebnisse der Physiologie.*, 64 166-307.

Kapur S. & Remington, G. (1996). Serotonin-Dopamine Interaction and Its Relevance to Schizophrenia. *Psychiatry: Interpersonal and Biological Processes*, (April), 466–476.

Kassel, M. T., Rao, J. A., Walker, S. J., Bricenõ, E. M., Gabriel, L. B., Weldon, A. L., Langenecker, S. A. (2016). Decreased Fronto-Limbic Activation and Disrupted Semantic-Cued List Learning in Major Depressive Disorder. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 22(4), 412–425. <https://doi.org/10.1017/S1355617716000023>.

Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). *Basic & clinical pharmacology*. Basic and clinical Pharmacology. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.074518>.

Kendler, K.S., Karkowski, L.M., Prescott, C.A., (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *American Journal of Psychiatry*, 156 (6): 837-841.

Knutson, J.F., Kane, N.L., Schlosberg, A.J., Fordyce, D.J. and Simansky, K.J. (1979) Influence of PCPA, shock level, and home-cage conditions on shock-induced aggression. *Physiology and Behavior*, 23: 897 – 907.

Koe, K.B. and Weissman, A., (1966) p-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 194 499-516.

Koike, H., Iijima, M., & Chaki, S. (2011). Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression. *Behavioural Brain Research*, 224(1), 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.05.035>.

Kovacic Peter and Somanathan, Ratnasamy “Clinical Physiology and Mechanism of Dizocilpine (MK-801): Electron Transfer, Radicals, Redox Metabolites and Bioactivity,” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3 (1): 13-22, 2010. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.1.10028>.

Kropotov, D. J. (2009). Chapter 21-Depression. In *Quantitative EEG, Event-Related Potentials and Neurotherapy*. Pág. 450–462). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374512-5.50021-8>.

Lahmame, A., Gomez, F., de Kloet, E. R., and Armario, A. (1996) Hypothalamic-pituitary-adrenal response to chronic stress in five inbred rat strains: differential responses are mainly located at the adrenocortical level. *Neuroendocrinology* 63, 327-337.

Lahmanie, A., & Armario, A. (1996). Differential responsiveness of inbred strains of rats to antidepressants in the forced swimming test: Are Wistar Kyoto rats an animal model of subsensitivity to antidepressants. *Psychopharmacology*, 123(2), 191–198. <https://doi.org/10.1007/BF02246177>.

Lei, Y., Yaroslavsky, I., & Tejani-Butt, S. M. (2009). Strain differences in the distribution of N-methyl-d-aspartate and gamma (Y)-aminobutyric acid-A receptors in rat brain. *Life Sciences*, 85(23–26), 794–799. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.10.010>.

Levine Caroline. (2018). neurotoxin | Definition, Examples, | Britannica.com. Retrieved March 7, 2019, from <https://www.britannica.com/science/neurotoxin>

Livia Chiriță, A., Gheorman, V., Bondari, D., & Rogoveanu, I. (2015). Current understanding of the neurobiology of major depressive disorder. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 56(2), 651–658.



Logue MP, Growdon JH, Coviella IL, Wurtman RJ (1985) Differential effects of DSP-4 administration on regional brain norepinephrine turnover in rats. *Life Sciences* 37:403–409.

López-Gil, X., Jiménez-Sánchez, L., Romón, T., Campa, L., Artigas, F., & Adell, A. (2012). Importance of inter-hemispheric prefrontal connection in the effects of non-competitive NMDA receptor antagonists. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(7), 945–956. <https://doi.org/10.1017/S1461145711001064>.

López-Rubalcava, C., & Lucki, I. (2000). Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*, 22(2), 191–199. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00100-1](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00100-1).

Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 434–445.

Löscher, W. and D. Honack, (1991), The novel competitive N-methyl- D-aspartate (NMDA) antagonist CGP 37849 preferentially induces phencyclidine-like behavioral effects in kindled rats: attenuation by manipulation of dopamine, alpha-1 and serotonin receptors, *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 257, 1146.

Machado-Vieira, R., Henter, I. D., & Zarate, C. A. (2017). New targets for rapid antidepressant action. *Progress in Neurobiology*, 152, 21–37. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.12.001>.

Maeng, Sungho, Zarate, Carlos A., Du, Jing, Schloesser, Robert J, McCammon, J., Chen, G., Manji, H. K. (2008). Cellular Mechanisms Underlying the Antidepressant Effects of Ketamine: Role of  $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazole-4-Propionic Acid Receptors. *Biological Psychiatry*, 63(4), 349–352. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.05.028>.

Maj, J., & Skuza, G. (1991). Antidepressant drugs increase the locomotor hyperactivity induced by MK-801 in rats *Journal of Neural Transmission*, 169–179.

Maj, J., Rogóz, Z., Skuza, G., & Sowińska, H. (1992). Effects of MK-801 and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *European Neuropsychopharmacology*, 2(1), 37–41. [https://doi.org/10.1016/0924-977X\(92\)90034-6](https://doi.org/10.1016/0924-977X(92)90034-6).

Mathew, S. J., Coplan, J. D., Smith, E. L. P., Schoepp, D. D., Rosenblum, L. A., & Gorman, J. M. (2001). Glutamate-hypothalamic-pituitary-adrenal axis interactions: Implications for mood and anxiety disorders. *CNS Spectrums*, 6(7), 555–564. <https://doi.org/10.1017/S1092852900002091>.

Mauri M, C, Ferrara A, Boscati L, Bravin S, Zamberlan F, Alecci M, Invernizzi G (1998). Plasma and Platelet Amino Acid Concentrations in Patients Affected by Major Depression and under Fluvoxamine Treatment. *Neuropsychobiology*, 37:124-129. doi: 10.1159/00002649

McEwen, B. S. (2012). The ever-changing brain: Cellular and molecular mechanisms for the effects of stressful experiences. *Developmental Neurobiology*, 72(6), 878–890. <https://doi.org/10.1002/dneu.20968>.

McGonigle, P. (2014). Animal models of CNS disorders. *Biochemical Pharmacology*, 87(1), 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.06.016>.

Mitani, H., Shirayama, Y., Yamada, T., Maeda, K., Ashby, C. R., & Kawahara, R. (2006). Correlation between plasma levels of glutamate, alanine and serine with severity of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 30(6), 1155–1158. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2006.03.036>.

Mlyniec, K. (2015). Zinc in the Glutamatergic Theory of Depression. *Current Neuropharmacology*, 13(4), 505–513. <https://doi.org/10.2174/1570159X13666150115220617>.

Mora, F., Segovia, G., Del Arco, A., De Blas, M., & Garrido, P. (2012). Stress, neurotransmitters, corticosterone and body-brain integration. *Brain Research*, 1476, 71–85. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.12.049>.

Mostalac-Preciado, C. R., Gortari, P. De, & López-rubalcava, C. (2011). Antidepressant-like effects of mineralocorticoid but not glucocorticoid antagonists in the lateral septum: Interactions with the serotonergic system. *Behavioural Brain Research*, 223(1), 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.04.008>.

Musazzi, L., Treccani, G., & Popoli, M. (2012). Glutamate hypothesis of depression and its consequences for antidepressant treatments. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 12(10), 1169–1172. <https://doi.org/10.1586/ern.12.96>.

Nam, H., Clinton, S. M., Jackson, N. L., & Kerman, I. A. (2014). Learned helplessness and social avoidance in the Wistar-Kyoto rat. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(April), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00109>.

Nielsen, C. K., Arnt, J., and Sánchez, C., (2000). "Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: inter-strain and inter-individual differences," *Behavior Brain Research*., 107 (12): 21–33.

Nowak G, Ordway GA, P. I. A. (1995). Alterations in the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor complex in the frontal cortex of suicide victims. *Brain Research*, 675, 157–164.

Ogren SO, Archer T, Johansson C. (1983) Evidence for a selective brain noradrenergic involvement in the locomotor stimulant effects of amphetamine in the rat. *Neuroscience Letters* 43:327–31.

Ormandy, G.C., X. Li and R.S. Jope, (1990), Dibenzocycloalkenimine (MK-801) stimulates phosphoinositide hydrolysis in rats cerebral cortical slices, *Neuropharmacology* 29, 779.

Owen, S. R., Boarder, M. R., Gray, J. A., & Fillenz, M. (1982). Acquisition and extinction of continuously and partially reinforced running in rats with lesions of the dorsal noradrenergic bundle. *Behavioural Brain Research*, 5(1), 11-41. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-4328\(82\)90088-2](http://dx.doi.org/10.1016/0166-4328(82)90088-2)

Page ME, Detke MJ, Dalvi A, Kirby LG, Lucki I. (1999) Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology*, 147:162–7.

Papp, M., Willner, P., and Muscat, R., (1991) “An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress,” *Psychopharmacology*, 104, No. 2, 255–259.

Paré, W. P. (1992). The performance of WKY rats on three tests of emotional behavior. *Physiology and Behavior*, 51(5), 1051–1056. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(92\)90091-F](https://doi.org/10.1016/0031-9384(92)90091-F).

Paré, W. P. (1994). Open field, learned helplessness, conditioned defensive burying, and forced-swim tests in WKY rats. *Physiology and Behavior*, 55(3), 433–439. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90097-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90097-3).

Pare, W.P., (1989). Stress ulcer susceptibility and depression in Wistar Kyoto (WKY) rats. *Physiology and Behavior*. 46, 993–998.

Pettit, J. W., Lewinsohn, P. M., & Joiner, T. E. (2006). Propagation of major depressive disorder: Relationship between first episode symptoms and recurrence. *Psychiatry Research*, 141(3), 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2005.07.022>.

Pham, T. H., Mendez-David, I., Defaix, C., Guiard, B. P., Tritschler, L., David, D. J., & Gardier, A. M. (2017). Ketamine treatment involves medial prefrontal cortex serotonin to induce a rapid antidepressant-like activity in BALB/cJ mice. *Neuropharmacology*, 112, 198–209. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.05.010>.

Poleszak E. (2007) Modulation of antidepressant-like activity of magnesium by serotonergic system. *Journal of Neural Transmission*, 114:1129–34.

Porsolt RD, Anton G, Deniel M, Jalfre M (1978): Behavioral despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, 47:379–391.

Porsolt, R. D., Le Pichon, M., and Jalfre, M., (1977) “Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments,” *Nature*, 266, No. 5604, 730–732.

Pournajafi -Nazarloo, H., Partoo, L., Yee, J., et al (2011)., “Effects of social isolation on mRNA expression for corticotrophin-releasing hormone receptors in prairie voles,” *Psychoneuroendocrinology*, 36, No. 6, 780–789.

Pruessner, M., Hellhammer, D. H., Pruessner, J. C., & Lupien, S. J. (2003). Self-reported depressive symptoms and stress levels in healthy young men: Associations with the cortisol response to awakening. *Psychosomatic Medicine*, 65(1), 92–99. <https://doi.org/10.1097/01.PSY.0000040950.22044.10>.

Pruus, Katrin & Rudissaar, R & Allikmets, L & Harro, Jaanus. (2010). The effect of the NMDA receptor antagonist dizocilpine on behavioral manifestations of serotonin and adrenergic

antidepressants in rats. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 32, 123-8. [10.1358/mf.2010.32.2.1481727](https://doi.org/10.1358/mf.2010.32.2.1481727).

Ramoá, W., (1990), The anticonvulsant MK-801 interacts with peripheral and central nicotinic acetylcholine receptor ion channels, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 254, 71-82.

Refsgaard, L. K., Pickering, D. S., & Andreasen, J. T. (2017). Investigation of antidepressant-like and anxiolytic-like actions and cognitive and motor side effects of four N-methyl-D-aspartate receptor antagonists in mice. *Behavioural Pharmacology*, 28(1), 37–47. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000266>.

Renoir, T., Pang, T. Y., & Lanfumey, L. (2012). Drug withdrawal-induced depression: Serotonergic and plasticity changes in animal models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(1), 696–726. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.10.003>.

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

Romero, E., Ali, C., Molina-Holgado, E., et al., (2007) “Neurobehavioral and immunological consequences of prenatal immune activation in rats,” *Neuropsychopharmacology*, 32, 1791–1804.

Ross SB, Johansson JG, Lindborg B, Dahlbom R (1973) Cyclizing compounds. I. Tertiary N-(2-bromobenzyl)-N-haloalkylamines with adrenergic blocking action. *Acta pharmaceutica Suecica* 10:29–42

Ross SB, Rényi AL (1976) On the long-lasting inhibitory effect of N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-bromobenzylamine (DSP4) on the active uptake of adrenaline. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 28. 458-9. [10.1111/j.2042-7158.1976.tb04659.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1976.tb04659.x).

Ross, S. B., & Stenfors, C. (2015). DSP4, a Selective Neurotoxin for the Locus Coeruleus Noradrenergic System. A Review of Its Mode of Action. *Neurotoxicity Research*, 27(1), 15–30. <https://doi.org/10.1007/s12640-014-9482-z>.

Salceda, E.; O. A. (2009). Neurotoxinas: Significado Biológico y Mecanismos de Acción. *Elementos*, 74, 29–37.

Sanacora, G., Zarate, C. A., Krystal, J. H., & Manji, H. K. (2008). Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 7(5), 426–437. <https://doi.org/10.1038/nrd2462>.

Scholl, J. L., Renner, K. J., Forster, G. L., & Tejani-Butt, S. (2010). Central monoamine levels differ between rat strains used in studies of depressive behavior. *Brain Research*, 1355, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.08.003>.

Shepard, R. D., Langlois, L. D., Browne, C. A., Berenji, A., Lucki, I., & Nugent, F. S. (2018). Ketamine Reverses Lateral Habenula Neuronal Dysfunction and Behavioral Immobility in the Forced Swim Test Following Maternal Deprivation in Late Adolescent Rats. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 10(October), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2018.00039>.

Sills MA, Loo PS (1989). Tricyclic antidepressants and dextromethorphan bind with higher affinity to the phencyclidine receptor in the absence of magnesium and L-glutamate. *Molecular Pharmacology* 36: 160–165.

Singewald, N., Zhou, G., Chen, F., & Philippu, A. (1996). Corticotropin-releasing factor modulates basal and stress-induced excitatory amino acid release in the locus coeruleus of conscious rats. *Neuroscience Letters*, 204: 45–48.

Solberg LC, Olson SL, Turek FW, Redei E. (2001) Altered hormone levels and circadian rhythm of activity in the WKY rat, a putative animal model of depression. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281: 786–94

Soubrie, P., (1986) Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior, *Behavioral Brain Sciences*, 9: 319-364.

Staufenbiel, S. M., Penninx, B. W. J. H., Spijker, A. T., Elzinga, B. M., & Van Rossum, E. F. C. Hair cortisol, stress exposure, and mental health in humans: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology*, 2013 38(8), 1220–1235. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.11.015>.

Steckler T. N.H.Kalin and J.M.H.M Reul. (2005) Handbook of Stress and the brain. Chapter 12 The neuropsychology of stress, Elsevier Vol 15 , , pág. 25-38.

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., and Simon, P., (1985) “The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice,” *Psychopharmacology*, 85, (3): 367–370.

Strong, C., Gruneberg, H., & Heston, E. (2003). Las líneas genéticamente estandarizadas y los controles de la pureza genética. *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio*, 105–136.

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

Tejani-Butt, Shanaz M. Kluczynski Joseph, P. W. P. (2003). Strain-dependent modification of behavior following antidepressant treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27(2), 7–14. <https://doi.org/10.1007/BF02457445>.

Tizabi, Y., Bhatti, B. H., Manaye, K. F., Das, J. R., & Akinfiresoye, L. (2012). Antidepressant-like effects of low ketamine dose is associated with increased hippocampal AMPA/NMDA receptor density ratio in female Wistar-Kyoto rats. *Neuroscience*, 213, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.052>.

Tolosa Vilella, C., Duñó Ambrós, R., & Escoté Llobet, S. (2002). Antidepressivos tricíclicos: efectos adversos y ventajas de la monitorización terapéutica. *Medicina Clínica*, 119(16), 620–626. [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(02\)73517-3](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(02)73517-3).

Vergnes, M., Depaulis, A. and Boehrer, A. (1986) Parachlorophenylalanine-induced serotonin depletion increases offensive but not defensive aggression in male rats. *Physiology and Behavior*, 36: 653 – 658.

Wenge B, Bönisch H (2009) Interference of the noradrenergic neurotoxin DSP4 with neuronal and nonneuronal monoamine transporters. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacology* 380:523–529

Will, C. C., Aird, F., & Redei, E. E. (2003). Selectively bred Wistar – Kyoto rats: an animal model of depression and hyper-responsiveness to antidepressants. *Molecular Psychiatry*, 8: 925–932. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001345>

Willner, P., (1997) “Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation,” *Psychopharmacology*, 134, (4), 319–329.

Willner, P., Scheel-Krüger, J., & Belzung, C. (2013). The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2331–2371. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.12.007>.

World Health Organization. (2017). Depression and other common mental disorders: global health estimates. World Health Organization, 1–24. <https://doi.org/CC BY-NC-SA 3.0 IGO>.

Xu, F., Gainetdinov, R. R., Wetsel, W. C., et al., (2000) “Mice lacking the norepinephrine transporter are supersensitive to psychostimulants,” *Nature Neuroscience*, 3, No. 5, 465–471.

Yan, Q. S., Reith, M. E. A., Jobe, P. C., & Dailey, J. W. (1997). Dizocilpine (MK-801) increases not only dopamine but also serotonin and norepinephrine transmissions in the nucleus accumbens as measured by microdialysis in freely moving rats. *Brain Research*, 765(1), 149–158. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00568-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00568-4).

Yang, B., Ren, Q., Ma, M., Chen, Q.-X., & Hashimoto, K. (2016). Antidepressant Effects of (+)-MK-801 and (-)-MK-801 in the Social Defeat Stress Model. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19: 1–5. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw080>.

Yaroslavsky I, Colletti M, Jiao X, Tejani-Butt SM. (2006) Strain differences in the distribution of dopamine (DA-2 and DA-3) receptor sites in rat brain. *Life Sciences* 79: 772–776.

Youdim, M. B. H., Edmondson, D., & Tipton, K. F. (2006). The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(4): 295–309. <https://doi.org/10.1038/nrn1883>.

Zarate, C.A., Singh, J.B., Carlson, P.J., Brutsche, N.E., Ameli, R., Luckenbaugh, D.A., Charney, D.S., Manji, H.K., (2006). A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Archives of General Psychiatry*, 63: 856-864.