

Universidade de Santiago de Compostela

**Facultade de Bioloxía**

*Departamento de Bioloxía Celular e Ecoloxía*



# **Búsqueda de Biomarcadores Periféricos en Trastorno Depresivo Mayor**

Tesis Doctoral

Tania Rivera Baltanás

2012





# **Búsqueda de Biomarcadores Periféricos en Trastorno Depresivo**

## **Mayor**

Tesis Doctoral presentada por

**Tania Rivera Baltanás**

**Directores:**

**Héctor Juan Caruncho Michinel**

Prof. Titular de Biología Celular

Dpto. Biología Celular e Ecoloxía

**José Manuel Olivares Diez**

Dr. en Psiquiatra

Hospital do Meixoeiro

Complejo Hospitalario Universitario de Vigo

Departamento de Biología Celular e Ecoloxía

Facultade de Biología

Universidade de Santiago de Compostela

Santiago de Compostela, 2012





**D. Héctor Juan aruncho Michinel**, Prof. Titular de Biología Celular de la Facultad de Biología de la Universidad de Santiago de Compostela, y **D. José Manuel Olivares Díez**, Doctor en Psiquiatría del Hospital Meixoeiro del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo,

HACEN CONSTAR:

Que Dña. Tania Rivera Baltanás ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo de Tesis Doctoral, Búsqueda de Biomarcadores Periféricos en Trastorno Depresivo Mayor, y que dicho trabajo reúne todas las condiciones necesarias para ser presentado para su valoración por la comisión correspondiente.

Y para que así conste y surta efectos oportunos, lo firmamos en Santiago a 10 de Febrero de 2012.

***Héctor Juan Caruncho Michinel***  
***Prof. Titular de Biología Celular***  
***Dpto. Biología Celular e Ecoloxía***

***José Manuel Olivares Díez***  
***Dr. en Psiquiatra Hospital do Meixoeiro***  
***Complejo Hospitalario Universitario de Vigo***

***Tania Rivera Baltanás***



*A Visi, Manolo, Olimpia, Martín y Sandra*



## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo.

En primer lugar, agradecer a mi padres y a mi hermana el esfuerzo inmenso que han hecho durante años para que la “medio metro” llegara a convertirse en doctora, aunque ni se lo imaginaran. También, a mis abuelos que han cuidado siempre de mí y con tinuando haciéndolo cada día sin importar los tropiezos que tuviera. A todos, gracias por vuestra confianza, cariño, paciencia y, sobre todo, por conseguir que seamos una gran piña.

A mis amigos Guille, Sol y María porque han sabido apoyarme en los buenos y en los malos momentos, por su complicidad y por conseguir hacer desaparecer los malos ratos con tantas juergas y conversaciones transcendentales.

A Dora, por ser el mejor ejemplo de superación y valentía. Eres muy grande, prima.

Especial reconocimiento merece mi compañerita “Caruncha”, Raquel, por ayudarme cada día de manera desinteresada, sin importar los horarios impensables ni las horas ilimitadas, por confiar en mis formas algo peculiares de trabajo y mantener en secreto las claves de mi éxito (Ssshhh.....). De ella he aprendido el valor de trabajar en equipo y la persistencia por conseguir lo que uno desea, sin mencionar las risas interminables. Esta tesis también es tuya, gracias.

A Belén y Carla porque, aunque siguen pensando que soy una “psicóloga de m.r.d.a”, han sabido entender mis limitaciones y han mantenido la compostura al ver a la pobre Tania intentando pintarle rayas a la cinta de autoclave. Gracias por todas las anécdotas.

A Berta y a Mónica, por su ayuda y su buen humor, y porque son capaces de demostrar que el glamour y la ciencia no están reñidos.

A Manolo, por entregarme el elixir de la felicidad y por aguantar en un laboratorio lleno de frenéticas hormonas femeninas.

A María Calado, por todo el trabajo que ha llevado a cabo para conseguir los ansiados linfocitos y por sus horas de dedicación en la recogida de los datos clínicos.

A todo el departamento de Biología Celular por permitir la intrusión de un psicólogo en su campo de batalla, a profesores y compañeros, por sus útiles consejos, por compartir su experiencia y estar siempre dispuestos a echar una mano.

Y, por supuesto, quiero expresar mi gratitud por el apoyo y la confianza que me han prestado durante estos años, a mis directores Héctor J. Caruncho Michinel y José M. Olivares Diez por la orientación, el seguimiento y la supervisión continua de mi labor investigadora.

Gracias a todos



# ÍNDICE

<b>I. Introducción .....</b>	<b>17</b>
<b>1. Los Trastornos depresivos .....</b>	<b>19</b>
1.1. Historia conceptual .....	19
1.2. Conceptos generales.....	20
1.3. Clasificación de los trastornos depresivos .....	21
1.3.1. Depresiones reactivas- depresiones endógenas .....	21
1.3.2. Depresión psicótica- depresión neurótica .....	22
1.3.3. Depresión unipolar- depresión bipolar.....	22
1.3.4. Depresión primaria- depresión secundaria.....	22
1.3.5. Depresión: categoría o dimensión clínica .....	23
1.4. El Trastorno depresivo mayor.....	24
1.4.1. Características sintomatológicas .....	24
1.4.2. Características diagnósticas .....	29
1.4.3. Curso .....	30
1.4.4. Epidemiología.....	31
1.4.5. Evaluación.....	33
1.4.6. Diagnóstico diferencial .....	36
<b>2. Psicofarmacología y terapias no farmacológicas de la depresión.....</b>	<b>37</b>
2.1. Psicofarmacología de la depresión.....	37
2.1.1. Fases del tratamiento antidepresivo .....	38
2.1.2. Eficacia y efectividad de los tratamientos antidepresivos .....	39
2.1.3. Farmacoterapia.....	41
2.1.4. Terapias no farmacológicas .....	51
<b>3. La Serotonina .....</b>	<b>53</b>
3.1. Relación anatómica .....	53
3.2. Estructura .....	54
3.3. Síntesis, almacenamiento y liberación .....	54
3.4. Metabolismo .....	56
3.5. Receptores de serotonina .....	56
3.6. Actividad de la serotonina .....	62
3.7. Serotonina y Sistema Inmune .....	63
<b>4. El transportador de serotonina: SERT.....</b>	<b>66</b>
4.1. Estructura y características generales de los transportadores de monoaminas .....	66
4.2. Análisis de la relación entre la estructura y la función de SERT.....	67
4.3. Mecanismo de transporte .....	68
4.4. Localización de SERT .....	68
4.5. Regulación fisiológica de SERT .....	69
4.5.1. Regulación de SERT por balsas lipídicas .....	69
4.5.2. Oligomerización de SERT .....	71
4.5.3. Regulación post-traducciona.....	71
4.5.4. Interacciones proteína-proteína.....	74
4.6. Estudios genéticos de la actividad de SERT .....	74

4.7. Patologías en las que existe alteración de la actividad serotoninérgica el papel de SERT .....	75
4.8. Regulación farmacológica de SERT .....	77
<b>5. Reelina y Depresión .....</b>	<b>78</b>
5.1. La reelina.....	79
5.2. El ratón mutante reeler: un modelo de depresión .....	83
5.3. Mecanismo de acción de reelina durante el desarrollo cerebral .....	84
5.4. La reelina en cerebro adulto.....	85
5.5. La reelina en el plasma sanguíneo .....	86
<b>6. Biomarcadores de Depresión .....</b>	<b>87</b>
6.1. Definición y uso .....	87
6.2. Factores neurotróficos y neurogénesis.....	88
6.3. CREB.....	89
6.4. Cortisol y colesterol .....	91
6.5. Transportador y receptores de serotonina .....	91
6.6. Vitaminas .....	92
6.7. Interleucinas.....	92
6.8. Presente y futuro de los biomarcadores de depresión .....	92
<b>II. Justificación y Objetivos.....</b>	<b>95</b>
<b>III. Material y Métodos .....</b>	<b>99</b>
<b>1. Modelo animal experimental: el ratón reeler .....</b>	<b>101</b>
1.1. Extracción de ADN genómico para genotipar .....	101
1.2. Detección de los marcadores génicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	103
1.3. Obtención de linfocitos .....	104
<b>2. Estudio en sujetos humanos .....</b>	<b>105</b>
2.1. Datos sociodemográficos y clínicos.....	106
2.2. Obtención de linfocitos .....	107
<b>3. Métodos analíticos.....</b>	<b>108</b>
3.3. Análisis de las proteínas mediante Western Blot.....	108
3.3.1. Preparación de las muestras .....	108
3.4. Inmunocitoquímica .....	113
3.4.1. Inmunocitoquímica en linfocitos de ratón .....	113
3.4.2. Inmunocitoquímica en linfocitos humanos .....	113
<b>4. Neuroimagen y cuantificación.....</b>	<b>115</b>
4.1. Microscopia confocal y análisis de imagen (image J) .....	115
4.2. Variables de estudio y análisis estadístico .....	118
4.2.1. Variables de estudio en el modelo animal experimental .....	118
4.2.2. Variables de estudio en sujetos humanos.....	119
<b>IV. Resultados y Discusión.....</b>	<b>123</b>



<b>Capítulo I: Alteraciones en la agrupación del transportador de serotonina en la membrana de linfocitos de ratones reeler .....</b>	<b>125</b>
A. Introducción .....	125
B. Resultados .....	127
1.1. Estudio de la expresión del transportador de serotonina (SERT) en la membrana de linfocitos de ratones reeler. ....	127
1.1.1. Detección mediante western blot de la expresión proteica del transportador SERT en linfocitos de ratón. ....	129
1.1.2. Inmunomarcaje de la agrupación de SERT en linfocitos de ratón.....	130
1.2. Análisis estadístico de la expresión de SERT en linfocitos de ratones reeler .....	132
1.3. Análisis de la distribución de la expresión de SERT en linfocitos de ratones reeler. ....	134
C. Discusión .....	135

<b>Capítulo II: Alteraciones de la agrupación del transportador de serotonina en la membrana de linfocitos en relación con la Escala de Depresión de Hamilton .....</b>	<b>139</b>
A. Introducción .....	141
B. Resultados .....	143
2.1. Características sociodemográficas y clínicas de los sujetos de estudio .....	143
2.2. Estudio de la expresión del transportador SERT en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos. ....	149
2.2.1. Detección mediante western blot de la expresión proteica del transportador SERT en linfocitos humanos. ....	149
2.2.2. Doble inmunomarcaje: agrupación de SERT en dominios específicos de membrana. ....	150
2.2.3. Inmunocitoquímica con bisbenzimidida. ....	150
2.2.4. Inmunomarcaje de la agrupación de SERT en linfocitos control y depresivos. ....	151
2.2.5. Distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos en linfocitos de individuos control y pacientes no tratados.....	155
2.2.6. Subgrupos depresivos D-I y D-II: análisis de las diferencias en la agrupación de SERT en linfocitos de pacientes no tratados.....	155
2.3. Estudio de las puntuaciones clínicas de la escala HDRS en pacientes depresivos. ....	159
2.3.1. Subgrupos D-I y D-II: análisis de las diferencias en las escala de depresión HDRS en pacientes no tratados.....	159
2.3.2. Correlaciones entre HDRS y los parámetros biológicos en los individuos depresivos no tratados.....	162
2.3.3. Subgrupos D-I y D-II: análisis de las diferencias en las escala de depresión HDRS después del tratamiento. ....	163
2.4. Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento.....	165
2.4.1. Correlaciones entre HDRS y los parámetros biológicos después del tratamiento. ....	167
C. Discusión .....	170

<b>Capítulo III: Alteraciones de la agrupación del transportador de serotonina en la membrana de linfocitos en relación con la Escala de Autoevaluación de la Anhedonia (EAA).....</b>	<b>173</b>
A. Introducción .....	175
B. Resultados.....	178

3.1. Características sociodemográficas y clínicas de los sujetos de estudio.....	178
3.2. Estudio la expresión del transportador SERT en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos.....	178
3.3. Estudio de las puntuaciones clínicas de la escala EAA en pacientes depresivos.....	179
3.3.1. Análisis de las diferencias en las escala EAA en pacientes no tratados.....	179
3.3.2. Correlaciones entre la escala EAA y los parámetros biológicos en los individuos depresivos no tratados.....	184
3.3.3. Análisis de las diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO después del tratamiento.....	185
3.4. Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento.....	194
3.4.1. Correlaciones de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con los parámetros biológicos, después del tratamiento.....	195
C. Discusión.....	197

**Capítulo IV: Alteraciones en la agrupación del receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en la membrana de linfocitos en relación con la Escala de Depresión de Hamilton (HDRS).....**

<b>Hamilton (HDRS).....</b>	<b>201</b>
A. Introducción.....	203
B. Resultados.....	206
4.1. Características sociodemográficas y clínicas de los sujetos de estudio.....	206
4.2. Estudio de la expresión del receptor de serotonina 5-HT <sub>2A</sub> en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos.....	209
4.2.1. Inmunomarcaje de la agrupación del receptor 5-HT <sub>2A</sub> en linfocitos control y depresivos.....	209
4.2.2. Distribución del tamaño de los agrupamientos 5HT <sub>2A</sub> -positivos en linfocitos de individuos control y pacientes no tratados.....	214
4.2.3. Subgrupos depresivos D-I y DII: análisis de las diferencias en la agrupación del receptor 5HT <sub>2A</sub> en linfocitos de pacientes no tratados.....	215
4.3. Estudio de las puntuaciones clínicas de la escala HDRS en pacientes depresivos.....	218
4.3.1. Subgrupos D-I y D-II: análisis de las diferencias en la escala de depresión HDRS en pacientes no tratados.....	218
4.3.2. Correlaciones entre las puntuaciones HDRS y los parámetros biológicos en los individuos depresivos no tratados.....	221
4.3.3. Análisis de las diferencias en las escala de depresión HDRS después del tratamiento.....	221
4.4. Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento.....	224
4.4.1. Correlaciones entre HDRS y los parámetros biológicos después del tratamiento.....	226
C. Discusión.....	229

**Capítulo V: Alteraciones de la agrupación del transportador de serotonina en la membrana de linfocitos en relación con la Escala de Autoevaluación de la Anhedonia (EAA).....**

<b>la Anhedonia (EAA).....</b>	<b>233</b>
A. Introducción.....	235
B. Resultados.....	236
5.1. Características sociodemográficas y clínicas de los sujetos de estudio.....	236

5.2.	Estudio la expresión del receptor 5HT <sub>2A</sub> en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos. ....	237
5.3.	Estudio de las puntuaciones clínicas de la escala EAA en pacientes depresivos. ....	238
5.3.1.	Análisis de las diferencias en las escala EAA en pacientes no tratados. ....	238
5.3.2.	Correlaciones entre la escala EAA y los parámetros biológicos en los individuos depresivos no tratados. ....	243
5.3.3.	Análisis de las diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO después del tratamiento. ....	244
5.4.	Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento. ....	254
5.4.1.	Correlaciones de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con los parámetros biológicos, después del tratamiento. ....	254
C.	Discusión. ....	256
<b>V.</b>	<b>Conclusiones</b> .....	<b>259</b>
<b>VI.</b>	<b>Bibliografía</b> .....	<b>263</b>
<b>VII.</b>	<b>Abreviaturas</b> .....	<b>301</b>
<b>VIII.</b>	<b>Anexos</b> .....	<b>307</b>
1.	CIE-10: F(30-F39) Trastornos del humor (afectivos).....	309
2.	DSM-IV-TR: 6. Trastornos depresivos (índice con códigos CIE-10).....	310
3.	Criterios para el episodio depresivo mayor .....	311
4.	Criterios para el diagnóstico de trastorno depresivo mayor.....	313
5.	Escala de Depresión de Hamilton (HDRS).....	317
6.	Escala de Autoevaluación de la Anhedonia (EAA).....	321
7.	Representación gráfica de los parámetros biológicos individualizada: sujetos control y pacientes depresivos: SERT. <i>Anexo contenido en CD adjunto.</i>	
8.	Representación gráfica de los parámetros biológicos individualizada: sujetos control y pacientes depresivos: 5-HT <sub>2A</sub> . <i>Anexo contenido en CD adjunto.</i>	
<b>IX.</b>	<b>Publicaciones</b> .....	<b>327</b>



# **Introducción**



## 1. Los Trastornos depresivos

### 1.1. Historia conceptual

La historia conceptual de la depresión se inicia con Hipócrates (460-370 a. C.), que bajo una concepción humoral de los trastornos mentales, emplea el nombre de *melancolía* para referirse aquellos pacientes que con frecuencia vomitaban bilis negra a causa de su “aversión a la comida, irritabilidad, cansancio y somnolencia”, unido a un estado de tristeza y miedo. Añade, además, que tanto el miedo como la tristeza, sean o no depresivos, cuando duran mucho tiempo “pueden transformarse en melancolía”, introduciendo así la condición de cronicidad a la afección melancólica (Hipócrates, Aforismos IV, 23). Por su parte Galeno (130-200 d.C.) manteniendo una concepción fisiológica de la melancolía, atribuye su origen a un exceso cerebral de bilis negra y afirma que: “aunque cada paciente melancólico actúa bastante diferente que los demás, todos ellos muestran miedo o desesperación. Creen que la vida es mala y odian a los demás, aunque no todos quieren morir. Como consecuencia de la tristeza los melancólicos odian todo lo que ven y parecen continuamente apenados y llenos de miedo, como los niños y los hombres ignorantes que tiemblan en una oscuridad profunda”. De este modo, en la Antigüedad la concepción humoral deja de lado los aspectos subjetivos en la alteración del humor refiriéndose a cantidades excesivas o deficitarias de los humores como causa última de la enfermedad (Jackson, 1986).

La supremacía de la teoría humoral y el uso del término melancolía se mantuvo hasta el S. XIX, siglo en el que el uso de la palabra *depresión* (del latín *depressus*, abatimiento) comienza a ser cada vez más frecuente en los contextos médicos referidos a la melancolía gracias a autores como Richard Blackmore, que menciona en 1725 la posibilidad de estar deprimido en profunda tristeza y melancolía, o elevado a un estado lunático o de distracción, y Robert Whytt que en 1764 que relaciona la depresión mental con un espíritu bajo, hipocondría y melancolía. Y a finales del S. XIX se alcanza definitivamente el cambio conceptual con Kraepelin (1856-1926). Kraepelin consigue clasificar los estados melancólicos en diferentes cuadros nosológicos delimitados, sobre todo en la sexta edición de su Tratado de Psiquiatría (1896), donde reagrupa los estados melancólicos y maníacos en una misma categoría a la que denominó *locura maniaco-depresiva*, diferenciandola de la *demencia precoz* (llamada esquizofrenia poco después por Bleuler, 1911). Acuñó el término *locura maniaco-depresiva* tras observar que algunas personas alternaban periodos libres de enfermedad con fases maníacas y depresivas, fuera de los cuales, el paciente era capaz de funcionar con normalidad. En palabras del propio autor: “La locura maniaco-depresiva, abarca por un lado todo el campo de la locura periódica y de la locura

circular; por el otro, la manía simple, la mayor parte de los estados patológicos que se designan con el nombre de melancolía y también una cantidad considerable de casos de amentia. Finalmente también ubicamos aquí ciertas disposiciones del humor más o menos acentuadas". Y añade, "Las enfermedades psiquiátricas son causadas principalmente por desórdenes biológicos y genéticos".

Un aspecto importante que Kraepelin recoge de sus contemporáneos es el carácter cíclico de la enfermedad, la alternancia de estados de depresión y manía, que ya había sido considerada anteriormente por autores como Falret y Baillarger (1854), Griessinger (1867) y Kahlbaum (1882). Falret, fue el primero en describir la locura circular (*folie circulaire*) como estados depresivos y maníacos separados por un intervalo libre, destacando el curso intermitente, el comienzo frecuentemente brusco y el carácter reversible de la mayoría de los episodios.

Baillarger describe la locura de doble forma (*folie à double forme*) en la misma línea que Falret y con ambos surge por primera vez en la historia de la psiquiatría el concepto de lo que actualmente entendemos por trastorno afectivo bipolar, aislado del resto de la patología psiquiátrica (Pichot, 1995).

Asimismo, Griessinger describió la manía y la melancolía como trastornos crónicos con pobre pronóstico, consideraba la manía como la etapa final de una melancolía gradualmente agravada, y ambas, como dos etapas de una única enfermedad. Y Kahlbaum introdujo el término ciclotimia para referirse a formas más leves de estos trastornos episódicos melancólicos y maníacos, y también acuñó el término distimia para referirse a una variedad crónica de melancolía (Jackson, 1986).

Después de Kraepelin, otras aportaciones importantes fueron la separación de los trastornos afectivos en *monopolar* (personas con historia sólo de depresión o sólo de manía) y *bipolar* (personas con trastornos maniaco-depresivos o circulares) por Kleist (1953) y Leonhard (1957) y la diferenciación entre monopolares y bipolares en base a su curso clínico y características genéticas por Angst y Perry (1960).

## 1.2. Conceptos generales

El punto de partida debería situarse en la clara diferenciación entre el concepto de síntoma y de síndrome depresivo. La depresión como *síntoma* significa sentirse triste y es una característica presente en la mayor parte de los cuadros psicopatológicos (ej., esquizofrenia, obsesiones, etc.) y de otras enfermedades médicas (ej., cáncer, alzheimer, parkinson, etc.), siendo necesaria pero no suficiente para diagnosticar un *síndrome* depresivo. Para que la depresión pueda concebirse como un síndrome, la tristeza o el estado de ánimo depresivo deben aparecer



simultáneamente junto a otros criterios como la anhedonia, las alteraciones del sueño o los problemas en las relaciones sociales. Asimismo, es necesario distinguir la *depresión clínica* de los estados de ánimo depresivos temporales y periódicos, estableciendo un límite entre la respuesta depresiva normal y la patológica. Para algunos autores existiría una única dimensión de los estados depresivos, diferenciando los cuadros depresivos por la intensidad cuantitativa o gravedad de los síntomas (Akiskal y col., 1977; Gershon y col., 1982; Tsuang y col., 1985; Goodwin y Jamison, 1990; Akiskal y Benazzi, 2003). Otros autores, sin embargo, hablan de una diferencia cualitativa entre la depresión normal y la patológica, considerando que en la depresión pueden diferenciarse subtipos diferentes y que, además, los síntomas depresivos provocan un malestar que afecta a todas las áreas importantes del funcionamiento de la persona. El estado de ánimo depresivo tendría autonomía propia sin apenas reaccionar ante sucesos externos y determinando la voluntad de la persona que lo padece (Neele, 1949; Leonhard, 1961; Angst, 1966; Perris, 1966; Winokur y col., 1969).

### 1.3. Clasificación de los Trastornos depresivos

La depresión sigue siendo hoy en día entendida como una entidad clínica única, especialmente en atención primaria, limitando la identificación de los distintos subtipos depresivos entre sí y, por tanto, la posibilidad de formular un diagnóstico correcto, realizar un buen pronóstico respecto a la evolución e instaurar un tratamiento apropiado a cada caso.

El intento de definir cuántas depresiones hay y establecer una clasificación de los trastornos depresivos ha suscitado una enorme polémica a lo largo de los años, dando lugar a múltiples divisiones. Las dicotomías más destacadas han sido:

#### 1.3.1. Depresiones reactivas-depresiones endógenas (1920 y 1930)

Su origen se debe a la discusión entre la explicación psicológica de la depresión (*depresión reactiva*) defendida por Freud, basada en la existencia de factores desencadenantes, ya sean ambientales o de origen psíquico (ej., un duelo mal resuelto), que desembocan en una pobre respuesta terapéutica, y la explicación biológica (*depresión endógena*) defendida por Kraepelin, que no tiene en cuenta factores ambientales, sino una profunda tristeza y síntomas somáticos que se resolverían adecuadamente mediante el tratamiento. En la actualidad la existencia o no de precipitantes psicosociales es irrelevante para distinguir subtipos de depresión o para cualquier clasificación de los trastornos del estado de ánimo y la distinción de estos dos subtipos de

depresión viene dada por diferencias sintomatológicas no por factores etiológicos (Guidi y col., 2010).

### **1.3.2. Depresión psicótica-depresión neurótica**

La diferencia diagnóstica entre cuadros psicóticos y cuadros neuróticos tuvo mucha importancia en la década de 1920, sin embargo, a partir del DSM-III (1980) la palabra *neurosis* ya no aparece recogida y la distinción entre *depresión con y sin síntomas psicóticos* se mantiene para calificar a los trastornos del estado de ánimo en los que existen delirios o alucinaciones. Esta dicotomía basada en la gravedad sintomatológica desaparece y se mantiene el término psicótico en un sentido estrictamente sintomatológico.

### **1.3.3. Depresión unipolar- depresión bipolar**

Esta distinción fue propuesta por primera vez por Leonhard en 1957, y defiende la existencia de formas depresivas monopolares frente a las bipolares, sin diferencias sintomatológicas claras entre el episodio depresivo de un bipolar y de un paciente unipolar, aunque con diferencias significativas en cuanto al curso, la genética y la respuesta al tratamiento. Actualmente, evidencias genéticas y biológicas como el aumento de la respuesta visual evocada, el aumento en los niveles de la monoamina oxidasa (MAO) plaquetaria, la mejor respuesta al litio en pacientes bipolares y la mayor eficacia del tratamiento agudo en depresión unipolar llegaron a consolidar esta dicotomía (Paykel, 2008).

### **1.3.4. Depresión primaria-depresión secundaria**

Aunque los conceptos de primario-secundario son parecidos a los de endógeno-reactivo existen características diferentes suficientes para considerarlos aparte. Los trastornos del estado de ánimo primarios (trastorno depresivo unipolar o bipolar) serían aquellos que aparecerían en pacientes sin historia de enfermedad previa, mientras que los secundarios se darían secundariamente a otras enfermedades de aparición anterior (alcoholismo, fobias, trastorno obsesivo-compulsivo (TOC), esquizofrenia, enfermedad orgánica cerebral, etc.). A pesar de la indudable utilidad de la distinción entre primario y secundario a la hora de establecer grupos homogéneos sobre los que posteriormente poder investigar, las diferencias que se han encontrado entre ambos subgrupos son pequeñas y no parecen determinar de forma significativa la respuesta al tratamiento, la evolución o el pronóstico del trastorno (Coryell y col., 1982), si cabe, la diferencia es importante desde el punto de vista de la elección terapéutica por el mayor riesgo de

suicidio en las depresiones primarias y por la necesidad de incidir casi simultáneamente en el problema anímico y en los trastornos que lo acompañan en las depresiones secundarias (Brim y col., 1984).

### 1.3.5. Depresión: categoría o dimensión clínica

En último lugar, existe una diferenciación de los trastornos del estado de ánimo, y de la depresión en especial, en referencia a su posible naturaleza dimensional o categorial, que posee gran relevancia científica y clínica. A pesar de que en los manuales diagnósticos vigentes (CIE-10 y DSM-IV-TR) se realiza una clasificación de los tipos de trastornos del estado de ánimo, poseen un carácter categorial, muchas investigaciones han puesto de manifiesto la posibilidad de considerar la depresión a lo largo de un continuo, donde en el extremo menos grave se encontraría la personalidad depresiva y en el extremo más grave el trastorno depresivo mayor (TDM) (Ruscio y Ruscio, 2008). Considerar la depresión como una dimensión única implicaría tener en cuenta factores relacionados con la variación en el nivel de gravedad, no sólo con la simple presencia o ausencia de la depresión (Agudelo y col., 2005), los instrumentos de medida que se emplean en la evaluación de la depresión y que se centran en distinguir la presencia o no de depresión perderían su valor predictivo y, además, el conocimiento que se tiene sobre la depresión en base al estudio de pacientes que cumplen unos criterios de gravedad no permitiría conocer las formas más leves de depresión (Ruscio y Ruscio, 2000).

En lo que se refiere a la subtipificación actual de la depresión, ésta se basa en los dos principales sistemas de clasificación en materia de salud mental, de carácter internacional y con validez legal y científica, la décima revisión de la *Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas de salud* (CIE-10), llevada a cabo por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1992, y el *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales*, 4ª edición, texto revisado (DSM-IV-TR, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders), de la Asociación Americana de Psiquiatría (APA, 2000). Cuando ambos sistemas se elaboraron a mediados del siglo pasado su utilidad era principalmente administrativa y de obtención de datos para fines estadísticos, sin embargo, a lo largo de los años las múltiples revisiones y la evolución de las bases conceptuales de las clasificaciones han permitido: mejorar su aplicación clínica y su aportación a la investigación clínica y epidemiológica, mejorar la comunicación entre clínicos de diferentes orientaciones y entre clínicos e investigadores, y reducir las diferencias entre ambos sistemas.

A pesar de que ha mejorado la congruencia entre ambos sistemas, los dos son multiaxiales

y persiguen proporcionar directrices para aumentar la fiabilidad de los juicios clínicos, las diferencias siguen siendo perceptibles. El DSM-IV-TR tiene como fin último proporcionar descripciones claras de las categorías diagnósticas para que los clínicos y los investigadores puedan diagnosticar, estudiar y tratar los distintos trastornos mentales, mientras que la CIE-10 tiene un carácter fundamentalmente epidemiológico. Además, presentan diferencias en la clasificación (ver **Anexos 1 y 2**) y en los criterios diagnósticos que definen el *episodio depresivo mayor* (ver **Anexo 3**) y el *trastorno depresivo mayor* (ver **Anexo 4**). Por ejemplo, la CIE-10 diferencia 10 síntomas en el episodio depresivo mayor frente a los 9 del DSM-IV-TR, distinguiendo la pérdida de autoestima del sentimiento de culpa. También, tiene distintos criterios diagnósticos para cada nivel de gravedad del episodio depresivo mayor (leve, moderado y grave) definido cada uno por un número mínimo de síntomas, por ejemplo, un mínimo de 6 síntomas define el nivel moderado, mientras que en el DSM-IV-TR no se especifica la gravedad del episodio. Propone un período interepisódico de por lo menos 2 meses libre de cualquier síntoma significativo de alteración del ánimo para poder hablar de dos episodios diferentes, en el DSM-IV-TR es suficiente un intervalo en el que no se cumplan todos los criterios del trastorno depresivo mayor de cómo mínimo 2 meses. Y, por último, forma un conjunto y clasifica los trastornos por separado.

## 1.4. El Trastorno depresivo mayor

### 1.4.1. Características sintomatológicas

#### A. Síntomas anímicos

La *tristeza* es el síntoma más representativo, está presente en casi la totalidad de los pacientes y es la queja principal, siendo indicado por el propio sujeto (sentimientos de tristeza o vacío) o por observación de otros (apariencia triste). En niños y adolescentes puede verse como ánimo irritable (APA, 2000).

#### B. Síntomas motivacionales y conductuales

La *anhedonia*, o disminución de la capacidad de disfrute, es junto a un estado de ánimo deprimido el síntoma principal. Supone una inhabilidad para experimentar placer y emociones normales como llorar. Se diferencia del aplanamiento afectivo del paciente con esquizofrenia en

que la anhedonia se vivencia como egodistónica y se exterioriza el malestar. En su forma más grave esta inhibición conductual se denomina *retardo psicomotor*, un enlentecimiento generalizado de las respuestas motoras, el habla, el gesto, y la ausencia motivacional absoluta. En casos extremos, este retardo puede llevar al *estupor depresivo*, un estado de mutismo y parálisis motora casi totales, muy similar al estupor catatónico (Coryell y col., 1995).

En lo que se refiere al papel de la anhedonia en la depresión vamos a realizar una mención especial sobre este fenómeno, puesto que será un concepto central para nuestro estudio.

El término anhedonia fue acuñado originalmente por Ribot (1897) para referirse a la “insensibilidad para el placer”, es decir, el placer según Ribot sería siempre una *sensación*, algo físico, que unido a su otro elemento el representacional permitirían conformar cualquier tipo de placer, desde el puramente físico hasta el más espiritual e intelectual. Desde Ribot, numerosos autores clásicos han descrito el concepto de anhedonia, a pesar de no hacer referencia a este autor y sin verse influenciados por su pensamiento. Kraepelin (1913) y Bleuler (1911) consideran la anhedonia como una parte del concepto más general de *indiferencia*, característica propia del estado emocional de los pacientes esquizofrénicos, y Jaspers (1959), aunque no emplea el término de anhedonia, si diferencia entre sensaciones y sentimientos y considera que el placer sería un sentimiento, de modo que, la pérdida de placer implicaría que el paciente pierde la capacidad de sentir, es consciente de los estímulos del entorno pero se muestra indiferente y apático. Jaspers considera esta pérdida de la capacidad de sentir propia de los pacientes con psicosis agudas, y la distingue del estado de indiferencia que mostrarían los pacientes depresivos en los que habría una continua queja de la pérdida de interés, un sentimiento de no ser capaz de sentir. Por su parte, Freud (1963) considera la pérdida de la capacidad para disfrutar como una retención de la energía debida a la represión ante el conflicto neurótico. Aunque el número de aportaciones es muy extenso, son tres autores los que han permitido desarrollar toda la investigación sobre la anhedonia hasta nuestros días: Sandor Rado, Paul E. Meehl y Donald F. Klein. Actualmente, los autores que estudian la anhedonia en relación a la esquizofrenia se basan en Rado o en Meehl, y los que estudian la anhedonia en relación a la depresión se basan en Klein.

Rado definió la anhedonia como el “bloqueo de la capacidad de recompensa ante estímulos habitualmente reforzantes” (Rado, 1956). Sería una condición de la esquizofrenia, en la que el paciente es incapaz de experimentar placer, que le lleva al aislamiento social y a la realización de conductas desviadas al no ser capaz de conseguir placer mediante las actividades valoradas socialmente. Para Rado la anhedonia es una predisposición heredada para la esquizofrenia.

Meehl (1987) considera la anhedonia como uno de los cuatro rasgos fundamentales de la personalidad esquizotípica, un déficit de naturaleza neural que predispone al desarrollo de la esquizofrenia o la depresión. Habla de *capacidad hedónica*, como un atributo psicológico positivo de la personalidad que presenta una distribución normal en la población general. Para él, la anhedonia debería ser considerada como un rasgo constitucional (transmitido genéticamente), perdurable que precede y posiblemente causa la depresión. Concretamente en relación con la depresión, habla de la anhedonia como un marcador de vulnerabilidad genética del TDM, un factor de personalidad que contribuye o refuerza el desarrollo del trastorno depresivo.

Finalmente, Klein (1974) plantea una hipótesis de la anhedonia como síntoma nuclear de la depresión mayor frente a los autores que han considerado el déficit hedónico como un marcador de vulnerabilidad. Para ello utilizó el término *endogenomórfico*, para describir un subtipo de depresión mayor caracterizado por una marcada sintomatología anhedónica. La anhedonia sería un rasgo patognomónico de la depresión asociado a algún trastorno funcional específico en el sistema nervioso central (SNC), fácil de tratar respecto a los otros síntomas depresivos. La teoría de Klein ha sido, además, esencial para la categorización de los trastornos afectivos en el DSM-III (1980), en la que la anhedonia es considerada un criterio necesario para el diagnóstico del TDM y donde aparece definida como la “pérdida de interés o placer en todas o casi todas las actividades”. Cabe señalar que, a partir del DSM-III-R la anhedonia pierde cierta preponderancia en el diagnóstico de la depresión, continúa siendo un síntoma fundamental pero no necesario.

La cuestión sobre la anhedonia como un síntoma asociado a la esquizofrenia o a la depresión continúa sin estar resuelto. La CIE-10 ha decidido incluir la “disminución del interés y de la incapacidad de sentir placer y experimentar emociones agradables” entre los síntomas biológicos de la depresión mayor (Pelizza y Ferrari, 2009). Por su parte, el DSM-IV-TR (2000) define la anhedonia como la “disminución de la capacidad de disfrute”, que junto con el estado de ánimo deprimido conforman los criterios diagnósticos fundamentales del TDM. Además, el DSM-IV-TR en la sección dedicada a “Trastornos y rasgos asociados a la esquizofrenia” añade el especificador “con rasgos melancólicos” si existe “ausencia casi absoluta de la capacidad para el placer, no simplemente una disminución” aunque considera la anhedonia como un síntoma negativo (no como un criterio) de la esquizofrenia.

Algunos estudios clínicos han revelado el carácter esencial de la anhedonia como síntoma fundamental del TDM. Por ejemplo, Olivares y col. (1995) propusieron un modelo de formación del síntoma de la anhedonia en base a una serie de procesos sucesivos, que podrían derivar en distintos tipos de anhedonia en función de la vía seguida para su conformación. Así, la anhedonia de la esquizofrenia sería distinta a la anhedonia de la depresión. Además, llegaron a la

conclusión de que esta concepción teórica de la anhedonia no podía ser comprobada a través de las escalas de evaluación publicadas hasta la fecha, como la Escala de Anhedonia Social (SAS) y la Escala de Anhedonia Física (PAS) de Chapman y col. (1976) o la Subescala de Anhedonia-Insociabilidad de la SANS (Andreasen, 1983), dada la superposición entre las puntuaciones de la PAS entre pacientes esquizofrénicos y controles que limitaba su uso clínico y no permitía distinguir entre los distintos tipos de anhedonia en relación con la vía seguida para su conformación, ni permitían medir la sensación de cambio en la capacidad hedónica del paciente (Olivares y col., 2005). Por esta razón decidieron crear y validar una nueva escala de evaluación de la anhedonia, la Escala de Autoevaluación de la Anhedonia (EAA) o Self-Assessment Anhedonia Scale (SAAS, en inglés) (Olivares y col., 2005). Los resultados mostraron que las puntuaciones totales de la escala eran significativamente mayores en pacientes con esquizofrenia y depresión que en controles sanos y que en controles sanos desde un punto de vista psiquiátrico sometidos a un programa de hemodiálisis. Además, los pacientes deprimidos presentaban diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles en todos los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de la subescala de INTENSIDAD, en todos los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, en la mayoría de las intelectuales y en todas las sociales de la subescala de FRECUENCIA, y en todos los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de la subescala de CAMBIO. Por el contrario, los pacientes esquizofrénicos presentaban diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles en un porcentaje bajo de los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de la subescala de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO. De este modo, los datos confirmaron que la anhedonia es un síntoma relevante en la depresión, pero no así en la esquizofrenia, dado que las diferencias de los sujetos esquizofrénicos respecto a los controles no eran estadísticamente significativas en las subescalas de INTENSIDAD y de FRECUENCIA, aunque dichos pacientes sí percibían un cierto “cambio” (diferencias estadísticamente significativas en la subescala de cambio). Esto confirmaba la hipótesis apuntada por el modelo inicial de que la construcción del síntoma anhedonia en los esquizofrénicos se realiza a través de una construcción diferente a la anhedonia en depresión. La anhedonia que aparece en los pacientes deprimidos sería una anhedonia “primaria” o “verdadera”, en palabras del autor, en la que los pacientes son conscientes de que padecen una verdadera incapacidad para disfrutar con una acusada percepción de “cambio” respecto a su situación premórbida. En cambio, los pacientes esquizofrénicos no tendrían una incapacidad real para disfrutar, de experimentar el “placer como una sensación”. La conclusión final que alcanzaron fue que la única posibilidad de que los

esquizofrénicos presentasen una anhedonia “primaria” o “verdadera”, sería la existencia de un estado depresivo en algún punto del curso de la enfermedad, ya que los síntomas depresivos son frecuentes en pacientes esquizofrénicos, y que su diferenciación de los verdaderos síntomas negativos es en ocasiones compleja (Olivares, 2001; Hausmann y Fleischhacker, 2002).

Otros autores como Joiner y col. (2003) han observado que en los ítems sobre anhedonia, del Inventario de Depresión de Beck (BDI, Beck Depression Inventory), los pacientes con TDM obtienen puntuaciones significativamente más altas que los pacientes esquizofrénicos, lo que sugiere que la anhedonia es un síntoma del trastorno depresivo con una marcada relación clínica con los síntomas depresivos de retraso psicomotor e ideación suicida recurrente (Lemke y col., 2004).

Por nuestra parte pensamos que, el desarrollo y la evaluación de nuevos tratamientos para los trastornos depresivos serán más efectivo si se logran a través de la utilización de métodos que evalúen de forma óptima la anhedonia y son, además, sensibles a los efectos del tratamiento.

#### C. Síntomas físicos

Un síntoma típico que afecta al 80-85% de los casos es el *insomnio*, con despertar temprano por adelantamiento del ciclo sueño-vigilia (5 p.m. a 2 a.m. p.ej.), disminución del número e intensidad de los husos del sueño y de las fases 3 y 4 con disminución de las ondas delta y disminución de la latencia del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR o REM en inglés) e incremento del mismo en la primera mitad. La remisión aparente de la sintomatología sin disminución del acortamiento de la latencia del REM puede significar un gran riesgo de recaída. Normalmente, se trata de insomnio pero, también, existe un pequeño porcentaje que presenta *hipersomnia* (Staner, 2010).

Otros síntomas físicos son la pérdida de apetito, la fatiga y la disminución de la actividad y el apetito sexual debido al compromiso hipotalámico en la depresión. Los centros hipotalámicos modulados por la serotonina (5-HT) regulan el apetito y, conjuntamente con la noradrenalina (NA), regulan las diferentes fases del funcionamiento sexual (Martin-Soelch y col., 2007).

#### D. Síntomas cognitivos

La alteración de las funciones cognitivas es una característica fundamental de la depresión, pudiendo aparecer dificultades para concentrarse o pensar y problemas de indecisión incluso antes que los sentimientos de abatimiento e infelicidad. La *memoria*, la *atención* y la *capacidad de concentración* pueden verse afectadas seriamente siendo muy complicado para el paciente desarrollar las tareas cotidianas. Con frecuencia aparecen trastornos en la memoria reciente,



debido a una limitada capacidad de atención consumida con pensamientos de carácter obsesivo o por déficits en adoptar estrategias activas de agrupamiento semántico para recordar listas de ítems, que pueden estar presentes en más del 50% de los pacientes (Baune y col., 2010). El contenido de la persona deprimida también está alterado con ideas continuas de pérdida, baja autoestima, marcado autoreproche y culpa, además de, desesperanza y pesimismo y recurrentes pensamientos de muerte e ideas suicidas. La *ideación suicida* está presente en más del 60% de los pacientes y ha sido relacionada, entre otros, con la disminución del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y con el incremento en el número de receptores 5-HT<sub>2</sub> postsinápticos de 5-HT (Isometsä y col., 1994). En los casos severos, pueden presentarse también ideas delirantes congruentes o no con el estado de ánimo (McClintock y col., 2010).

#### E. Síntomas interpersonales

La calidad y cantidad de las relaciones con los demás se ven afectadas en gran medida. El estado de desánimo induce a la disminución de la búsqueda activa de contacto, al aislamiento, pese a la necesidad de apego, integración, valoración de los sujetos. Este aislamiento no sólo es un síntoma de depresión, sino que también puede ser un predictor de la enfermedad. La falta de habilidades sociales, especialmente para intimar y hacer amigos, las dificultades de carácter y maduración, hacen que las relaciones resulten problemáticas, insatisfactorias, pobres y decepcionantes (Lee, 2005).

Además, estos pacientes normalmente sufren el rechazo de las personas que les rodean, lo que a su vez actúa aislándoles aún más.

### 1.4.2. Características diagnósticas

#### A. El concepto de episodio depresivo mayor

El concepto clave de los trastornos depresivos es el de *episodio depresivo mayor*. Se define por la presencia simultánea de cinco o más síntomas (disminución del estado de ánimo, anhedonia, insomnio o hipersomnia, pérdida de peso sin hacer régimen o aumento, agitación o enlentecimiento psicomotor, fatiga, sentimientos de inutilidad o culpa, disminución de la concentración y pensamientos de muerte o suicidio) durante un periodo continuado de 2 semanas, que representan un cambio respecto a la actividad previa que provoca un malestar clínicamente significativo o deterioro social, laboral o en otras áreas del individuo (ver **Anexo 3**). Se requiere que al menos uno de esos síntomas sea necesariamente o bien un estado de ánimo

triste, deprimido, o bien una pérdida de placer, anhedonia, con las cosas con las que uno solía disfrutar. Junto con los criterios de inclusión, el diagnóstico de Episodio depresivo mayor requiere cumplir tres criterios adicionales de exclusión: 1) que los síntomas no cumplan los criterios para un episodio mixto; 2) que los síntomas no sean causados por una enfermedad médica o por sustancias y 3) que los síntomas no sean debidos a una reacción de duelo normal por la muerte de un ser querido (APA, 2000).

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que un episodio no es una categoría diagnóstica, las categorías diagnósticas descritas por el DSM-IV-TR dentro de la clasificación de trastornos depresivos son: *TDM*, episodio único o recidivante, *Distimia* y el *Trastorno depresivo no especificado*.

#### B. El Trastorno depresivo mayor

El término aparece por primera vez en DSM-III (1980). La característica esencial de un *TDM* es un curso clínico caracterizado por uno o más episodios depresivos mayores en el que, además, se debe cumplir una serie de condiciones: 1) el episodio mayor no se explica mejor por la presencia de un trastorno esquizoafectivo y no está superpuesto a una esquizofrenia, un trastorno esquizofreniforme, delirante o psicótico no especificado y 2) nunca ha habido historia de episodios maníacos, hipomaniacos o mixtos. El *TDM* puede cursar con un único episodio, el diagnóstico será *TDM, episodio único*, o con dos o más episodios separados entre sí, diagnosticado entonces como *TDM, recidivante*. En este último caso será necesario especificar: *con o sin recuperación interepisódica* y si se presenta *con patrón estacional*. El episodio actual o más reciente se debe **codificar**, además, según su *gravedad*, presencia de *síntomas psicóticos*, *remisión parcial* o *total* y si es o *no especificado*. También es necesario **especificar** para el episodio actual o más reciente si el curso es o no *crónico*, si hay presencia de *síntomas catatónicos, melancólicos* o *atípicos* o si el episodio es *de inicio en el postparto* (ver **Anexo 4**).

#### 1.4.3. Curso

El *TDM* puede empezar a cualquier edad, aunque la edad promedio de inicio es la mitad de la tercera década de la vida. El curso de la depresión mayor es muy variable, algunas personas tienen episodios aislados separados por muchos años, otras tienen episodios agrupados, e incluso, otras presentan episodios cada vez más frecuentes a medida que se van haciendo mayores.

La mayor parte de personas que sufren un *episodio depresivo único* suelen recuperarse en 1 o 2 años, pero la recuperación suele ser sólo parcial. Aproximadamente un 15% de los casos va a

tener un curso crónico (2 años o más), un 18% permanece deprimido tras dos años de seguimiento, un 10% permanece deprimido al cabo de cinco años, e incluso, un 60% de los sujetos tendrán un segundo episodio (Muller y col., 1999; Kocsis, 2006). Los datos sobre el riesgo de *recaída* parecen indicar que los que tienden a la cronificación son aquellas personas que han tardado mucho (normalmente varios años) en buscar tratamiento, las personas que tienen una edad avanzada al inicio del primer episodio o un nivel socioeconómico bajo. El riesgo de recaída, también, es mayor en los primeros meses después de recuperarse de un episodio depresivo, concretamente, el primer año constituye un periodo de alto riesgo (Simon, 2000). La existencia de varios episodios previos en el curso de la vida hace que la probabilidad de recaída aumente, de este modo, los episodios depresión-no depresión se van acortando cuantos más episodios tiene el paciente y los sujetos que han sufrido tres episodios tendrán hasta un 90% de posibilidades de padecer el cuarto. La aparición tardía del primer episodio incrementa la posibilidad de aparición de más episodios (Hollon, 2006). Por otro lado, el tipo de depresión es un predictor importante de recaídas, las depresiones ligadas a cuadros físicos o mentales en personas que padecen enfermedades médicas crónicas presentan un mayor riesgo de desarrollar un TDM, hasta un 20-25% de los sujetos con determinadas enfermedades médicas (p.ej., diabetes, infarto de miocardio o accidentes cerebrales vasculares) presentarán un TDM a lo largo del curso de su enfermedad médica. Si hay un TDM, el tratamiento de la enfermedad médica es más complejo y el pronóstico, menos favorable. Además el pronóstico del trastorno es peor (p.ej., episodios más largos o respuestas más pobres al tratamiento) (Walker y col., 1999; Penninx y col., 2001). Pero, sin duda, el factor de riesgo más importante para la aparición de recaídas parece ser el impacto negativo de los síntomas depresivos sin resolver después de un episodio depresivo (Rush y col., 2006; Bertsky, 2009).

Los acontecimientos de estrés psicosocial grave, la muerte de un ser querido o un divorcio, puede ser significativo para desencadenar el primer o segundo episodio pero apenas incide cuando el número de episodios es mayor (Kendler y col., 2000).

Es necesario mencionar la alta mortalidad asociada al TDM, los sujetos que mueren por suicidio llegan al 15%. Las tasas de muerte en sujetos de más de 55 años aumentan hasta llegar a cuadruplicarse (APA, 2000).

### 1.4.4. Epidemiología

Los trastornos depresivos representan junto a los trastornos de ansiedad el 80% de todos los diagnósticos psiquiátricos en atención primaria. Son los trastornos más extendidos en la población por detrás de la ansiedad y el abuso de sustancias, sin embargo, la etiqueta de

*depresión* es el diagnóstico más común en la práctica clínica psicopatológica (Katon, 2003). Además, dicha enfermedad causa un coste enorme tanto en términos de gasto sanitario como en horas laborales dedicadas en la sociedad occidental, no sólo por la alta prevalencia del trastorno depresivo sino porque en la mayoría de cuadros clínicos, la presencia de síntomas depresivos es constante, llegando a ser la última razón que lleva al paciente a buscar ayuda.

Dos grandes estudios epidemiológicos, llevados a cabo en la población general, el Estudio Epidemiológico de Áreas (ECA, Epidemiologic Catchment Area) a comienzos de los 80, y la Encuesta Nacional de Comorbilidad (NCS, National Comorbidity Survey) a comienzos de los 90, ambos en EE.UU., se consideran actualmente de referencia para conocer la prevalencia de los trastornos depresivos en los países desarrollados (Department of Health and Human Services, 1999). La combinación de ambos estudios facilita una aproximación a la prevalencia de los trastornos del estado de ánimo, y de los trastornos mentales en general, por tramos de edad y categorías diagnósticas.

El estudio **ECA** fue el primer estudio a nivel de la población general en el que se utilizó una entrevista completamente estructurada, la Entrevista Diagnóstica Programada (*DIS*, Diagnostic Interview Schedule) (Robins y col., 1981). Según este estudio aproximadamente el 5% de la población adulta presenta o presentará un episodio de depresión mayor a lo largo de la vida. Concretamente, la prevalencia vital estimada se situó entre el 3 y el 5'9%, mientras que la prevalencia anual estuvo entre 1'7 y 3'4% (Robins y col., 1991). Posteriormente, en la misma década, se realiza la primera encuesta representativa a nivel nacional, la **NCS** (Blazer y col., 1993), utilizando un método semejante al del ECA. El instrumento empleado fue una versión modificada de la Entrevista Diagnóstica Compuesta Internacional (*CIDI*, Composite International Diagnostic Interview) (Robins y col., 1988). La prevalencia para el TDM fueron sustancialmente más altas que en el ECA, 14,9% (prevalencia vital) y 8,6%, (prevalencia anual). A pesar de las diferencias en las estimaciones, el ECA y la NCS fueron muy semejantes tanto en la determinación de la edad de inicio y la alta comorbilidad del TDM (Kessler y col., 1994).

La APA en su DSM-IV (1994) consideró que las estimaciones de prevalencia de los estudios ECA y NCS fueron poco realistas y la OMS ha llegado a situar a la depresión como una de las enfermedades más graves en el mundo (Olfson y col., 2002). De ello ha surgido el desarrollo de una nueva encuesta nacional de los trastornos mentales la **NCS-Replication** (Kessler y col., 2003b), que estimó en un 16,2% y un 6,6% la prevalencia vital y anual para el TDM, respectivamente.

Los datos acerca de la edad de inicio han sido semejantes en los tres estudios, considerando un riesgo bastante bajo hasta los 18 años y un aumentó casi de forma lineal con una pendiente

cada vez más fuerte en sucesivas cohortes (18-29, 30-44, 45-49, >60).

Finalmente, en los últimos años, en EE.UU, se ha realizado un amplio estudio desarrollado por el Sistema de Vigilancia de los Factores de Riesgo Conductuales (BRFSS, Behavioral Risk Factor Surveillance System), que incluyó el Cuestionario de 8 ítems sobre Salud del Paciente PHQ-8 (Patient Health Questionnaire) (Kroenke y col., 2009) con 235.067 encuestados, los resultados indicaron que un 49,7% de los individuos presentaban un TDM, un 23,9% otros trastornos depresivos, un 22,8% ánimo deprimido o anhedonia y sólo un 3,5% no mostraba evidencia de trastorno o síntomas depresivos.

Las cifras de prevalencia del TDM son prácticamente el doble en las mujeres que en los hombres, incluso en culturas muy diversas. El DSM-IV-TR informa de una proporción 2:1 entre mujeres y hombres y en el estudio del BRFSS se encontró que las mujeres eran mucho más propensas a informar de síntomas depresivos (4,0% vs 2,7%) que los hombres. Otros factores de riesgo a tener en cuenta son: el nivel socioeconómico bajo, los datos indican que las personas en paro presentan tasas más elevadas (9,8%) que las trabajadoras (2,0%), jubiladas (1,6%), las amas de casa y los estudiantes (3,0%), los medios urbanos, la raza, el grupo de edad (entre los 25 y los 44 años el riesgo es más alto pero es entre los 45 y 64 años cuando más se informa de síntomas depresivos), los acontecimientos vitales estresantes, las pérdidas familiares, y la historia de depresión en los progenitores (Hamem, 2005).

#### **1.4.5. Evaluación**

La práctica psiquiátrica supone un proceso constante de evaluación y medición del estado de los pacientes. Estas evaluaciones clínicas pueden ser clasificadas en función de su propósito y su formato. Cuatro propósitos diferentes: detectar la enfermedad, diagnosticar el trastorno, medir la severidad de la enfermedad y valorar la evolución de la misma, y dos formatos distintos: escalas heteroaplicadas y escalas autoaplicadas. Los instrumentos de evaluación pueden clasificarse según estos dos criterios del siguiente modo:

*Introducción*

<b>Propósito</b>	<b>Formato</b>	<b>Instrumento</b>
Detección	Escala autoaplicada	PHQ-9 Cuestionario sobre la Salud del Paciente-9 (Patient Health Questionnaire Depression scale 9) Kroenke y Spitzer (2002)
		K6 Cuestionario K6 (Kessler 6, K6, scale) Kessler y col. (2003a)
		BDI-II Inventario para la Depresión de Beck-II (Beck Depression Inventory) Beck y col.(1996)
Diagnóstico	Escala heteroaplicada	SCID Entrevista Clínica Estructurada (Structured Clinical Interview) First y col. (1996)
Medida de severidad	Escala autoaplicada	PHQ-9
		BDI-II
	Escala heteroaplicada	QIDS-SR Cuestionario Corto de Síntomas Depresivos (Quick Inventory of Depressive Symptomatology) Rush y col. (2003)
		HDRS Escala de Evaluación para la Depresión de Hamilton (Hamilton Depression Rating Scale) Hamilton (1960)
Valoración de la evolución	Escala autoaplicada	MADRS (Escala de Depresión Montgomery- Asberg) Montgomery y Asberg (1979)
		QIDS-C
		PHQ-9
		BDI-II
	Escala heteroaplicada	PHQ
		QIDS-SR
		HDRS
		MADRS
		QIDS-C

Escalas para la evaluación de la depresión (adaptado de Baños y col., 2005)

A. Escala de Evaluación para la Depresión de Hamilton

La escala de depresión de Hamilton (HDRS) (Hamilton, 1960) fue desarrollada originalmente para medir la severidad de los síntomas depresivos en pacientes con enfermedad depresiva primaria. La primera versión fue publicada por Max Hamilton en 1960. Diseñó la escala como una medida de gravedad de la depresión en pacientes deprimidos previamente diagnosticados. Desde entonces se han desarrollado diferentes versiones, aunque la más utilizada es la versión de 17 ítems. La versión original constaba de veintiún ítems, pero Hamilton consideró que los últimos cuatro elementos (variación durante el día, despersonalización/desrealización, síntomas paranoides y obsesivos y compulsivos) no debían ser considerados parte de la enfermedad, porque no son tan frecuentes como los otros y por lo tanto no deben contribuir a la puntuación total. La validación de la versión castellana de esta escala se realizó en 1986 por Ramos-Brieva. La existencia de diferentes versiones de la escala HDRS, con diferentes formatos y número de elementos, así como su amplia aplicación a diferentes poblaciones y ámbitos en la investigación psicológica, han generado algunas dudas sobre la solidez psicométrica del instrumento así como la fiabilidad interevaluadores al no existir una guía de la entrevista semiestructurada. Diferentes evaluaciones han permitido comprobar la validez discriminante, la fiabilidad y la sensibilidad al cambio, tanto en poblaciones hospitalizadas como ambulatorios (Bobes y col., 2003).

Cada cuestión tiene entre tres y cinco posibles respuestas, con una puntuación de 0-2 ó de 0-4 respectivamente. La puntuación total va de 0 a 52 y pueden usarse diferentes puntos de corte a la hora de clasificar el cuadro depresivo. La Guía de Práctica Clínica (Practice Guidelines) elaborada por el Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica (NICE, National Institute for Health and Clinical Excellence), guía con una alta calidad global en su elaboración y una puntuación muy recomendada según el instrumento Instrumento de Valoración de Directrices para la Investigación y Evaluación (AGREE, Appraisal of Guidelines for Reserch & Evaluation Instrument), recomienda emplear los siguientes puntos de corte: a) No deprimido: 0-7; b) Depresión ligera/menor: 8-13; c) Depresión moderada: 14-18; Depresión severa: 19-22; Depresión muy severa: >23.

Para la evaluación de la respuesta al tratamiento se ha definido como respuesta una disminución mayor o igual del 50% de la puntuación inicial de la escala, respuesta parcial como una disminución entre el 25-49% y una no respuesta como una reducción de menos del 25% (Shelton, 2006). La remisión se ha considerado para una puntuación menor o igual a 7 (Ballinger, 1999), aunque hay resultados que apoyan que este punto de corte debería de tener un valor más bajo (Zimmerman y col., 2005).

#### 1.4.6. Diagnóstico diferencial

En si mismo el estado de ánimo deprimido por si solo no es determinante diagnóstico de ningún cuadro psicopatológico, pudiendo estar presente en numerosas psicopatologías. Como aparece recogido en el DSM-IV-TR, el diagnóstico diferencial debe realizarse con: el *Trastorno del estado de ánimo debido a condiciones médicas*, los *Trastornos de ansiedad* (la ansiedad es un síntoma emocional que suele coexistir con la depresión en un 70-80% de los casos, la distinción diagnóstica fundamental es cronológica, sin embargo, es muy complicado saber que episodio antecede al otro, debido a su elevada concurrencia), el *TOC* (las obsesiones y las compulsiones aparecen con frecuencia en la depresión mayor y, a su vez, la presencia de episodios depresivos completos en los cuadros obsesivos-compulsivos es elevadísima, será el clínico el que determine la antecendencia temporal y la importancia clínica), las *reacciones de duelo*, los *Trastornos de ajuste* (estos trastornos se definen por una reacción de adaptación desproporcionada en los 3 meses siguientes a la aparición de un fuerte estresor identificable y que no se haya prolongado más de 6 meses desde su desaparición) y la *Esquizofrenia* y el *Trastorno esquizoafectivo* y las *Demencias* (se estima que entre un 20-30% de los pacientes con EA cumplen los criterios diagnósticos de depresión. Sin embargo, sigue siendo controvertido si los síntomas depresivos son un factor de riesgo para la EA, un síntoma temprano de la neurodegeneración, o si son una reacción a los principios de los déficits cognitivos (Tsuno y Homma, 2009).



## **2. Psicofarmacología y terapias no farmacológicas de la depresión**

### **2.1. Psicofarmacología de la depresión**

La depresión representa un trastorno mental complejo que resulta de la contribución de múltiples factores genéticos y ambientales. Un estado depresivo se caracteriza por anomalías en las funciones de la neurotransmisión monoaminérgica, del sistema hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA), las neurotrofinas y las citocinas, en individuos genéticamente predispuestos que han sufrido el impacto del estrés o de factores infecciosos. La disfunción central de la neurotransmisión, además de su repercusión en la conducta, origina alteraciones neurovegetativas y endocrinas, sobre todo en la secreción de cortisol, hormona tiroidea y hormonas de crecimiento. A su vez, las relaciones interpersonales, el entorno y las pautas de gratificación crean situaciones depresoras con experiencias de pérdida de indefensión y estrés, que influyen de nuevo negativamente en la actividad de los neurotransmisores, cerrando así un círculo que mantiene el proceso de manera indefinida. Por tanto, factores genéticos, factores epigenéticos y ontogenéticos se encuentran en la base de estas anomalías.

Las manifestaciones de la patología demuestran asociaciones con alelos específicos de genes candidatos, mecanismos epigenéticos de metilación del ácido desoxirribonucleico (ADN), acetilación y metilación de histonas y procesos de transcripción y traducción, todos ellos involucrados en el desarrollo de síntomas depresivos y también en su mejoría mediante tratamientos prolongados con antidepresivos. La búsqueda de medios eficaces para influir en la actividad intracelular de estos factores, mediante tratamientos farmacológicos que alteren la comunicación intercelular realizada por los neurotransmisores, hormonas y factores tisulares, y proporcionen plasticidad neuronal a largo plazo, es el modo de conocer los mecanismos fisiopatológicos de la depresión y poder desarrollar nuevos tratamientos.

Los tratamientos farmacológicos actualmente aprobados para la depresión presentan claras limitaciones, incluyendo el hecho de que todos ellos son esencialmente de base monoamínica, que su eficacia es modesta y de inicio relativamente lento, que provocan problemas de tolerancia significativa, especialmente a largo plazo (disfunción sexual, aumento de peso y alteraciones cognitivas), y que la causa de los trastornos anímicos es todavía desconocida, motivan que la mayor parte de los casos no reciban tratamiento ya que ni los clínicos ni los propios pacientes reconocen e identifican correctamente estas alteraciones (Chang y Fava, 2010).

Una proporción muy elevada de pacientes no responden de manera plenamente satisfactoria a ninguna de las terapias existentes, a pesar de los múltiples tratamientos antidepresivos existentes la mayor parte de los pacientes responden sólo de manera parcial o se muestran resistentes al tratamiento.

### 2.1.1. Fases del tratamiento antidepresivo

La depresión es por naturaleza una enfermedad episódica y recurrente. La duración media de un episodio depresivo mayor sin tratamiento es de 6 a 24 meses, aunque raramente sobrepasan los dos años de duración. La aparición de un primer episodio no suele motivar al paciente a acudir a consulta, de modo que cuando el paciente acude por primera vez a tratamiento es común que tenga una historia previa de varios episodios no reconocidos y no tratados desde la adolescencia. En el contexto médico, la depresión no tratada se asocia con un aumento de morbilidad y mortalidad, la persona con una depresión tiene mayores riesgos de sufrir enfermedades, de tener fracasos terapéuticos si recibe tratamiento por otra enfermedad, y de padecer un mayor sufrimiento o incapacidad por otra enfermedad concurrente. Además, el riesgo de suicidio o el desarrollo de otras enfermedades que como el alcoholismo o el abuso de sustancias son muy elevados. Dados los riesgos derivados de no tratar la depresión la terapia antidepresiva es esencial y con objetivos claros como son la reducción de los síntomas y signos y la prevención de las recurrencias hasta la remisión de la enfermedad. Cuanto más rápido actúe el tratamiento menos tiempo durará el episodio depresivo, lo que repercutirá en el pronóstico de la enfermedad a largo plazo.

Una vez que se inicia el tratamiento antidepresivo, la mejoría del paciente sigue tres fases principales: respuesta, remisión y recuperación. En una primera fase se produce una *respuesta* del paciente al tratamiento, tiene lugar una reducción de al menos un 50% de los síntomas evaluados mediante una escala psiquiátrica estándar como la HDRS. Tiene sentido establecer esta categoría porque puede llevar al profesional a no aumentar la dosis terapéutica asociando la respuesta al tratamiento o buscar otras alternativas si el paciente se muestra “no respondedor”. En la segunda fase, la *remisión* aparece una vez que el paciente se muestra prácticamente asintomático, aunque sin ausencia total de los síntomas, con una puntuación HDRS menor de 7. La tercera fase, la *recuperación*, es una remisión superior a un determinado periodo de tiempo, por encima de los 6 primeros meses. En esta fase se considera que los pacientes vuelven a la normalidad o al estado habitual (Frank y col., 1991; Keller y col., 1992).

Por otro lado, existen dos términos para describir el empeoramiento en un paciente con depresión. Si el paciente empeora antes de que se de una remisión completa, o antes de que la

remisión se haya convertido en recuperación, se habla de *recaída*. Sin embargo, si un paciente empeora unos meses después de la recuperación completa, se habla de *recurrencia*. (Pigott y col., 2010).

### 2.1.2. Eficacia y efectividad de los tratamientos antidepresivos

Una amplia variedad de antidepresivos están hoy disponibles para tratar el TDM y su eficacia a largo plazo es muy elevada, pero como todas las terapias médicas los antidepresivos tienen varias limitaciones que los clínicos deben considerar al elegir los tratamientos para sus pacientes. Es necesario que tengan en cuenta la diferencia entre la eficacia global de un fármaco y su eficacia en relación con los síntomas depresivos específicos, en subpoblaciones de pacientes concretas o en presencia de comorbilidades psiquiátricas y médicas, así como, los perfiles de tolerabilidad de los efectos secundarios y el perfil de seguridad de estos tratamientos (Papakostas, 2010).

Los antidepresivos son el tratamiento de primera línea para la depresión y en general son efectivos, sin embargo, no consiguen mitigar los síntomas depresivos en todos los pacientes. En promedio, aproximadamente el 70% de los pacientes responden al tratamiento de fase aguda con antidepresivos, sin embargo, un 30% de los pacientes no responde y la remisión sintomática se limita a una minoría significativa. De hecho, sólo dos de cada tres (2/3) responde a cualquier antidepresivo, mientras que uno de cada tres (1/3) no responde. Además, cuando se usa un placebo se ha visto que dentro del grupo de los respondedores (2/3) uno de cada tres (1/3) responde a ese placebo. Por tanto, sólo uno de cada tres pacientes respondería realmente (Hansen y col., 2005). Asimismo, la mitad de esos pacientes que responden a los fármacos lo hacen sólo después de ocho semanas o más de tratamiento, la respuesta suele aparecer 4 semanas desde el inicio del tratamiento con antidepresivos tricíclicos (ATC) y 6 semanas después en el caso de los inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT (ISRS), y los efectos secundarios nocivos se presentan entre la semana 5 y 11 para los ATC, y 21 a 94 para los ISRS (Arroll y col., 2005).

Una vez que el paciente muestra una respuesta adecuada a un antidepresivo, se recomienda el mantenimiento de ese tratamiento entre 6 y 12 semanas mientras se encuentra en la fase aguda, cuando se alcanza la remisión el tratamiento de continuación se prolonga entre los 4 y 9 meses posteriores, para asegurar que se mantiene la ausencia de síntomas depresivos y poder considerar el episodio como finalmente resuelto previniendo posibles recaídas. Tras la recuperación del episodio también se debe considerar la posibilidad de utilizar un tratamiento de mantenimiento para evitar la recurrencia de un nuevo episodio, para aquellos pacientes con una historia de episodios recurrentes este tratamiento de mantenimiento puede prolongarse durante años, dado

que el riesgo de sufrir un nuevo episodio aumenta rápidamente cuantos más episodios experimenta el paciente. Sin embargo, hay una parte negativa, y es que resulta muy común en los pacientes que responden que su respuesta se agote, es decir, que existe un alto porcentaje de pacientes, entre el 20 y 30 %, que dejan de responder durante el primer año y medio posterior a un tratamiento. En consecuencia, la efectividad de los antidepresivos a la hora de reducir las recaídas en la práctica clínica sigue siendo muy inferior a la eficacia de los antidepresivos en los ensayos clínicos (Keller y col., 2007).

Por si las limitaciones del tratamiento antidepresivo no fueran suficientes, los dos estudios más ampliamente aceptados sobre la eficacia de los fármacos antidepresivos “Selective publication of antidepressant trials and its influence on apparent efficacy” (Turner y col., 2008) e “Initial severity and antidepressant benefits: a meta-analysis of data submitted to the Food and Drug Administration” (Kirsch y col., 2008) añaden que existe un sesgo en los datos publicados por la Agencia de Drogas y Alimentación (FDA, Food and Drug Administration) del gobierno estadounidense respecto a los ensayos de registro de eficacia antidepresiva y consideran que la eficacia antidepresiva es modesta y de dudosa significación clínica. Ambos estudios reflejan el problema de la respuesta al tratamiento antidepresivo mostrando que tanto los artículos publicados como los estudios de meta-análisis muestran un sesgo significativo que exalta la aparente eficacia de los fármacos, siendo positivamente selectivos, para la aceptación general del tratamiento.

Otro estudio de gran significación científica, el estudio sobre Alternativas de Tratamiento Secuencial para la Depresión (STAR\*D, Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression), considerada la investigación más grande que se ha realizado sobre la eficacia del tratamiento de la depresión mayor llegó a las siguientes conclusiones: 1) La tasa de remisión en monoterapia es baja; 2) El cambio de un antidepresivo ISRS a otro, a uno dual o a uno de diferente mecanismo de acción no produce cambios positivos en la respuesta; 3) Las combinaciones funcionan posiblemente un poco mejor, en pacientes que tiene respuesta parcial pero no en aquellos que no muestran respuesta inicial; 4) No hay diferencias entre agregar o cambiar a psicoterapia y medicación en pacientes no respondedores; 5) La probabilidad de remisión va decreciendo a medida que se suceden tratamientos, especialmente a partir del tercero, mientras que las oportunidades de recaer aumentan; 6) La remisión tiene menores posibilidades de recurrencia que la simple respuesta (Rush y col., 2006).

Actualmente, no es posible predecir qué paciente responderá a los antidepresivos, la búsqueda de marcadores biológicos y posibles predictores todavía están por desarrollar, sin

embargo, muchos pacientes si responden y otros muchos consiguen responder tras varias pruebas y combinaciones.

### 2.1.3. Farmacoterapia

Los primeros fármacos antidepresivos, la *iproniazida* (Kline, 1956) y la *imipramina* (Kunh, 1958), aparecen como consecuencia de descubrimientos fortuitos en la década de los 50. Ambos medicamentos fueron estratégicamente desarrollados para el tratamiento de la tuberculosis y la psicosis, respectivamente, sin embargo, se observó que además, mejoraban el estado de ánimo y la actividad psicomotora de los pacientes, probando su eficacia en ensayos clínicos para el tratamiento de la depresión. La iproniazida actuaba inhibiendo la enzima MAO, encargada de la destrucción del neurotransmisor y por tanto permitiendo más neurotransmisor disponible en la sinapsis, y la imipramina bloqueando la recaptación de transmisores hacia su punto de procedencia aumentando, del mismo modo, la presencia de neurotransmisores en el espacio sináptico. El efecto era esencialmente el mismo pero mediante mecanismos de acción farmacológicos bien distintos. Investigaciones posteriores demostraron que estos primeros antidepresivos de una manera u otra aumentaban los niveles de 5-HT, NA y dopamina (DA), surgiendo la idea de que en la depresión existía un déficit de uno de estos neurotransmisores y dando lugar a la primera hipótesis de la depresión: la “hipótesis monoaminérgica”. Estos primeros antidepresivos los inhibidores de la monoaminoxidasa (**IMAO**) y los **ATC** proporcionaron un modelo para el desarrollo de nuevas clases de antidepresivos, incluyendo los **ISRS**, los inhibidores selectivos de la recaptación de NA (**IRN**) e inhibidores de la recaptación de 5-HT y NA (**IRSN**). Sin embargo, estos nuevos fármacos mantienen el mismo mecanismo de acción, de modo que su eficacia y la variedad de pacientes en los que el tratamiento tiene éxito siguen siendo los mismos (Berton y Nestler, 2006).

#### A. Antidepresivos tricíclicos (ATC)

El ATC por excelencia es la *imipramina*. Los ATC fueron sintetizados de modo paralelo a otras moléculas caracterizadas por su alta capacidad como tranquilizantes en la esquizofrenia, tales como la *clorpromazina*, uno de los primeros fármacos neurolépticos antipsicóticos. Sin embargo, a pesar de su semejanza molecular por su estructura de tres anillos, los ATC no resultaron eficaces cuando se probaron como antipsicóticos y en cambio funcionaron como excelentes antidepresivos. Por su actividad los ATC bloquean las bombas de recaptación tanto de la 5-HT (**IRS**) como de la NA (**IRN**) y, en menor medida, de la DA (**IRD**). Algunos ATC son más potentes en la inhibición del transportador de 5-HT (SERT) como la *clomipramina* y otros

del transportador de NA (NAT) como la *desipramina*, pero todos bloquean la recaptación de ambos transmisores. Además, todos los ATC tienen otras tres acciones: bloquean los receptores colinérgicos muscarínicos M1, bloquean los receptores de histamina H1 y bloquean los receptores adrenérgicos alfa 1. A mayores, algunos ATC también tienen la capacidad de bloquear los receptores 5-HT<sub>2A</sub> de 5-HT.

En cuanto a los efectos secundarios, el bloqueo de los receptores alfa1 origina hipotensión ortostática y mareos, el bloqueo de los receptores colinérgicos muscarínicos causa sequedad de boca, visión borrosa, retención urinaria, estreñimiento y trastornos en la memoria, y el bloqueo de los receptores H1 causa sedación y aumento de peso. Los ATC también bloquean los canales de sodio en el corazón y el cerebro, lo que puede causar arritmias cardíacas y parada cardíaca por sobredosis, además de ataques. Se encuentran entre los antidepresivos más eficaces, a pesar de su baja tolerancia a las dosis recomendadas y la gran toxicidad en caso de sobredosis. Parecen ser más eficaces que los ISRS en casos de depresiones severas (Koenig y Thase, 2009).

#### B. Inhibidores de la MAO (IMAO)

Los primeros IMAO actuaban todos inhibiendo de manera irreversible el enzima MAO, destruyendo su función para siempre, siendo necesaria la síntesis de un nuevo enzima para recuperar la actividad enzimática. A pesar de ser los primeros antidepresivos en aparecer resultaron menos eficaces que los ATC y con graves efectos secundarios por lo que su uso se vió muy limitado. Los efectos secundarios más serios se relacionan con el alto riesgo de alteración hepática, el incremento de la presión sanguínea y alteraciones del sistema nervioso central que desembocan en conductas excitatorias como la hipomanía. En los últimos años se han trabajado en este tipo de antidepresivos produciendo inhibidores selectivos de la MAO-A o de la MAO-B e inhibidores reversibles de la MAO-A (**IRMA**). Los IRMA (*Moclobemida*) mantienen los efectos terapéuticos de los IMAO pero, además, reducen los efectos secundarios de la inhibición de la MAO-A ya que son reversibles. Los **IMAO-B** (*Deprenyl*) al no inhibir la MAO-A reducen el problema de la hipertensión, sin embargo, en dosis normales resultan poco eficaces, tienen baja afinidad por la 5-HT y la NA (Sporn y col., 2004).

#### C. Inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT (ISRS)

Los ISRS son considerados la primera línea del tratamiento farmacológico antidepresivo y se utilizan ampliamente en todo el mundo con la disponibilidad de múltiples genéricos, considerándolos como una buena alternativa a los ATC por varias razones: por lo general se pueden iniciar a dosis terapéuticas, requieren menos ajustes individuales y son más sencillos de

prescribir, producen efectos secundarios que interfieren menos por lo que la tasa de abandono también es menor, la eficacia terapéutica es similar entre los ISRS y los ATC, son más seguros en caso de sobredosis y son muy selectivos, ya que todos inhiben selectivamente el SERT, frente a los ATC que inhiben la recaptación de 5-HT y NA, los receptores H1, M1 y alfa 1 y los canales de sodio del corazón y el cerebro (Koenig y Thase, 2009).

Los ISRS son seis fundamentalmente: *fluoxetina*, *sertralina*, *paroxetina*, *fluvoxamina*, *citalopram* y *escitalopram*. Su efecto terapéutico, asociado a la inhibición de la recaptación de 5-HT, tiene lugar tanto en el terminal axónico presináptico como en el extremo somatodendrítico. Al administrar un ISRS se produce el bloqueo de SERT y ésta no puede volver al terminal presináptico. Sin embargo, lo que se produce no es un aumento inmediato de 5-HT en el espacio sináptico sino en los cuerpos celulares de los núcleos del rafe, el aumento de 5-HT en los autorreceptores del extremo somatodendrítico tiene el efecto de regularlos a la baja y de desensibilizarlos, en ese momento la inhibición de flujo de impulsos en la neurona serotoninérgica desaparece, se pone en marcha el flujo de impulsos neuronales y la 5-HT es liberada en el terminal axónico. Este retraso entre que la 5-HT somatodendrítica regula a la baja los autorreceptores y activa los impulsos liberando más 5-HT explica por qué los ISRS no alivian los síntomas inmediatamente, retrasando hasta 8 semanas sus efectos. Un último paso, el aumento en la liberación de 5-HT desde los terminales axónicos desensibilizará a los receptores postsinápticos lo que explica la desaparición de los efectos secundarios de los ISRS cuando se desarrolla tolerancia.

La complejidad de los ISRS viene dada por el aumento generalizado que provocan en prácticamente todas las vías serotoninérgicas y los distintos receptores, provocando tanto acciones terapéuticas como acciones no deseadas. Parece que la vía que conecta el rafe mesencefálico con la corteza frontal explicaría su acción terapéutica antidepressiva, aunque no es la única. Los efectos secundarios se relacionan con la estimulación aguda de al menos cuatro subtipos de receptores: 5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2C</sub>, 5HT<sub>3</sub> Y 5HT<sub>4</sub>. Los efectos secundarios son generalmente agudos, empezando desde la primera dosis, de modo que para ellos bastaría el incremento agudo de 5-HT en la sinapsis tras el bloqueo del transportador. Y por ello, cuando los receptores postsinápticos se desensibilizan con el aumento de impulsos de 5-HT, los efectos secundarios desaparecen. Además, los efectos secundarios también aparecen por la acción de la 5-HT sobre receptores de otras áreas del cerebro, áreas de la médula y los intestinos. Por ejemplo, la estimulación de los receptores 5HT<sub>2A</sub> en la médula puede inhibir los reflejos espinales del orgasmo y la eyaculación y provocar disfunción sexual.

Los efectos secundarios que más a menudo interfieren con el resultado de la terapia con ISRS son los efectos gastrointestinales y los que afectan al SNC, en particular: náuseas y diarrea, dolor de cabeza, temblor nerviosismo, insomnio y disminución de la libido. En la población geriátrica también se ha encontrado un aumento del riesgo de caídas y fracturas, lo que puede mostrar efectos más sutiles de los ISRS en el equilibrio y la resistencia ósea.

Para terminar, hay que considerar que los distintos antidepresivos que hemos citado, aunque todos ellos actúen en la recaptación compartiendo los mismos mecanismos de acción, son claramente diferentes productos químicos y, en particular para los pacientes, existen importantes diferencias farmacológicas entre los distintos fármacos. Estas diferencias incluyen: la semivida de eliminación, los efectos en los sistemas de enzimas hepáticas (por ejemplo las isoenzimas CYP450) que participan en el metabolismo de los fármacos, la magnitud de los efectos sobre las monoaminas. Los pacientes individuales suelen reaccionar de forma muy distinta frente a un ISRS que frente a otro, las diferencias entre ellos son percibidas por los clínicos que prescriben los tratamientos a pacientes de uno en uno, ya que algunos pacientes experimentan respuesta terapéutica o toleran un ISRS y no otro. Por estas razones los antidepresivos no deben tratarse como medicamentos intercambiables, y la sustitución de un ISRS por otro durante el tratamiento puede ser problemático (Sporn y col., 2004).

### D. Inhibidores selectivos de la recaptación de NA (IRN)

La *reboxetina* es considerada como el primer antidepresivo IRN que es realmente selectivo, es decir, que actúa inhibiendo únicamente la recaptación de NA. Los ATC, descritos anteriormente, también inhiben la recaptación de NA pero además inciden sobre otros receptores con una potencia semejante. La reboxetina puede tener una función muy importante como complemento a los ISRS ya que proporciona una inhibición noradrenérgica selectiva mayor, sin los efectos secundarios de los ATC. El uso combinado puede ser muy importante dado que los pacientes depresivos pueden mostrar una deficiencia de 5-HT y/o NA, por lo que quizá no respondan a un tratamiento sólo con ISRS o con IRN, y si pueden responder a una combinación de ambos. Como ejemplo, existen pacientes que, si bien responden a los ISRS, no muestran una remisión sintomatológica, la explicación puede ser que su estado de ánimo ha mejorado por los ISRS, pero hay síntomas porque todavía existe un déficit de NA.

Las indicaciones relativas al uso de reboxetina muestran una eficacia comparable a los ISRS y ATC. Entre sus acciones terapéuticas se describen: mejora y potenciación del funcionamiento social (eliminando la apatía), mejora en casos de depresión grave que no responda al tratamiento o como complemento, mejora la fatiga, el retraso psicomotor, y los



déficits en atención y concentración, y es eficaz en trastornos ajenos a la depresión caracterizados por deficiencias en la memoria de trabajo y en la velocidad de procesamiento de la información. Estudios a corto y largo plazo han mostrado que la reboxetina tiene ventajas en la mejora de la función social sobre los ISRS (Kasper y col., 2000; Ferguson y col., 2002).

E. Bloqueadores de la recaptación de NA y de DA (IRND)

El *bupropión* es el agente prototípico de este grupo de antidepresivos. En sí tiene débiles propiedades en la recaptación de la DA y la NA, sin embargo, es metabolizado a un metabolito activo que no sólo es un bloqueador de la recaptación de NA muy potente, sino que, además, se concentra en el cerebro. Puede resultar un antidepresivo útil para los pacientes que no pueden tolerar los efectos secundarios serotoninérgicos de los ISRS y para los pacientes cuya depresión no responde a los ISRS. El bupropión raramente causa hipotensión ortostática, disfunción sexual, somnolencia o ganancia de peso, sus efectos secundarios más comunes son dolor de cabeza, insomnio, náuseas y nerviosismo (Sporn y col., 2004).

F. Inhibidores duales de la recaptación de 5-HT y de NA (IRSN)

La clase de antidepresivos IRSN se compone de tres fármacos: *venlafaxina*, *milnacipran* y *duloxetina*, que combinan las acciones tanto de los ISRS como de los IRN. Reciben el nombre de “inhibidores duales de la recaptación” porque poseen esta acción dual y, además, son selectivos para ella. Otros antidepresivos como los ATC, también son inhibidores duales tanto de la recaptación de NA como de la 5-HT, pero no se les incluye en este grupo porque carecen de la condición de selectividad. Los tres IRSN inhiben a SERT y NAT pero muestran diferencias en sus acciones. La *venlafaxina* tiene una alta afinidad por el SERT pero no por NAT, por lo que a dosis bajas podrían incluso funcionar como verdaderos ISRS. La *duloxetina* tiene una afinidad casi semejante para SERT y NAT, pero sigue siendo más selectiva para SERT, y el *milnacipran* es el más equilibrado y puede incluso ser un poco más noradrenérgico que serotoninérgico. La *venlafaxina* y la *duloxetina*, pero no el *milnacipran*, muestran, además, propiedades inhibitoras de la recaptación de DA, lo que puede llegar a ser relevante en dosis elevadas, especialmente para la *venlafaxina*, con un grado de inhibición de recaptación de DA poco potente (Stahl y col., 2005).

Se han llevado a cabo estudios en los que se han comparado los tres IRSN con uno o más de los ISRS, y sugieren que los niveles de eficacia de los tres IRSN son similares a nivel mundial (Stahl y col., 2002; Thase y col., 2001). Respecto a la tolerabilidad de los IRSN a dosis terapéuticas los tres son bien tolerados, la mayoría de los efectos adversos tienden a desaparecer

con la continuidad del tratamiento, sin embargo, para obtener una eficacia superior a los ISRS se necesitan dosis muy elevadas de venlafaxina que resulta en una menor tolerabilidad respecto a los ISRS. Por último, en general los ISRN son eficaces en el tratamiento de los síntomas de tristeza y abatimiento pero también en la respuesta ansiosa presente en la depresión, de hecho la venlafaxina de liberación prolongada está aprobada para el tratamiento de la ansiedad generalizada.

G. Acciones duales serotoninérgicas y noradrenérgicas a través del antagonismo alfa 2 (NASSA)

La *mirtazapina* se define como un antidepresivo noradrenérgico y serotoninérgico específico (NASSA). Incrementa la neurotransmisión noradrenérgica y serotoninérgica por su acción antagonista sobre los receptores alfa 2. Al bloquear autorreceptores alfa 2 presinápticos las neuronas noradrenérgicas quedan desinhibidas en todos sus terminales axónicos y, al mismo tiempo, aumenta la liberación de 5-HT a través de dos vías: una mediante la estimulación de los receptores alfa 1 serotoninérgicos somatodendríticos y otra por el bloqueo de los heterorreceptores alfa 2 presinápticos en el terminal axónico. Además la mirtazapina presenta acciones adicionales mediante el bloqueo de los receptores de 5-HT 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>2C</sub> y los receptores de histamina H1.

Muestra una eficacia semejante a otros antidepresivos y puede tener un inicio más rápido de acción que los ISRS, posee buena tolerabilidad y el perfil de seguridad es muy elevado (Marek y col., 2003).

H. Antagonistas 5-HT<sub>2A</sub> e inhibidores de la recaptación de serotonina (ASIR)

La *nefazodona* y la *trazodona* son los dos agentes característicos de este grupo de antidepresivos que destacan por ser potentes inhibidores de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> de 5-HT. Ambos bloquean también la recaptación de 5-HT, aunque de una manera menos potente que los antidepresivos tricíclicos y los ISRS.

La nefazodona es el miembro prototípico, potente antagonista 5-HT<sub>2A</sub>, con acciones secundarias como inhibidor de la recaptación de 5-HT y NA. También bloquea los receptores alfa 1, pero con leves consecuencias clínicas. Actúa tanto presinápticamente, inhibiendo la recaptación de 5-HT, como postsinápticamente, bloqueando el receptor 5-HT<sub>2A</sub>, de modo que, refuerza el antagonismo natural que existe entre 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>1A</sub>. La estimulación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> por la 5-HT reduce la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, disminuyendo la

neurotransmisión serotoninérgica, pero si los receptores 5-HT<sub>2A</sub> son bloqueados por un antagonista se pierde la influencia inhibitoria normal sobre 5-HT<sub>1A</sub> y el flujo de impulsos aumenta. A su vez, como inhibe la recaptación de 5-HT los receptores 5-HT<sub>1A</sub> son más estimulados lo que puede constituir una parte muy importante de la nefazodona puesto que sin la estimulación de 5-HT<sub>1A</sub>, el antagonismo 5-HT<sub>2A</sub> no tendría nada que potenciar. La combinación del agonismo 5-HT<sub>1A</sub>, por el bloqueo del transportador, y el antagonismo de 5-HT<sub>2A</sub> fortalece la sinergia de ambos receptores. De este modo incluye los beneficios de los ISRS pero al bloquear otros receptores como 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2C</sub> elimina efectos secundarios indeseables de estos, como la agitación o ansiedad, las disfunciones sexuales y el insomnio. La nefazodona también puede ser útil en el trastorno de pánico, el trastorno de estrés postraumático (TEP) y el trastorno de ansiedad generalizada (TAG) (DeVane y col., 2002).

En la actualidad lo que se necesita es un antidepresivo que inicie su acción antes de las 2-8 semanas y que resulte eficaz en más de cada dos tres pacientes. Tal eficacia debería ser sólida, causando remisión, no sólo la respuesta, manteniendo dicha remisión durante periodos más largos de tiempo y en una mayor proporción de pacientes que los antidepresivos actuales. A continuación se ofrece una muestra de otros posibles antidepresivos, algunos de ellos todavía en fases de desarrollo, y combinaciones de fármacos para pacientes resistentes al tratamiento.

#### I. Agonistas y Antagonistas 5HT<sub>1A</sub>

La *bupiróna*, agonista parcial del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, cuyo principal uso se da en el TAG, se utiliza como un potenciador en la depresión resistente al tratamiento. Si en la depresión la 5-HT es baja o está prácticamente agotada en las neuronas no se liberará la suficiente para que los ISRS puedan bloquear su recaptación. Así, en teoría, habrá una desensibilización insuficiente en los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos. A diferencia de los ISRS, cuyas acciones dependen totalmente de la liberación endógena de 5-HT, la bupiróna no depende de los niveles de 5-HT debido a que ejerce acciones directas sobre los receptores 5-HT<sub>1A</sub>. La bupiróna actúa sinérgicamente con los ISRS (Blier y Ward, 2003).

El *pinidolol*, un antagonista de los receptores presinápticos somatodendríticos 5HT<sub>1A</sub> ha demostrado, en numerosos estudios clínicos ser un acelerador de la respuesta antidepresiva y potenciador de una respuesta insuficiente a los ISRS (Whale y col., 2010)

J. Sistemas de Segundo mensajero

El *rolipram* es el fármaco más destacado. Actúa modificando la traducción de señales intracelulares mediante el bloqueo de la enzima fosfodiesterasa 4, encargada de la degradación del AMPc, incrementando el segundo mensajero adenosina monofosfato cíclico (AMP<sub>c</sub>). Se han realizado diversos ensayos, pero su uso se ha limitado debido a sus efectos secundarios (Norman y col., 1992; Zhang y col., 2002).

K. Estabilizadores del estado de ánimo

El litio es uno de los estabilizadores de ánimo más antiguo y más estudiados como posible complemento en el tratamiento de la depresión, principalmente en aquellos cuadros de depresión que no responden a los tratamientos habituales, en casos de depresión severa con recurrencia de episodios y en el tratamiento y prevención de episodios de depresión con trastorno bipolar (Katona y col., 1995; Capiello y col., 1998; Bauer y col., 2000). Dentro de los tratamientos complementarios en la depresión, el litio es el que produce mayores tasas de remisión, resultando efectivo en el 60 % de los pacientes, aunque muchos otros no pueden tolerarlo debido a sus numerosos efectos secundarios.

Las *benzodiazepinas* aumentan la eficacia de los antidepresivos consiguiendo menos abandono y reduciendo la gravedad de los síntomas depresivos en las primeras semanas de tratamiento. Su beneficio parece deberse a que eviten la incidencia de efectos secundarios relacionados con la ansiedad durante las primeras del tratamiento, aunque también se ha relacionado con la función baja del ácido  $\gamma$ -aminobutírico en la depresión (Shiah y Yatham, 1998).

El uso de *antipsicóticos atípicos* en el tratamiento de la depresión, se basa en que estas fármacos tienen la capacidad de estimular la neurotransmisión monoaminérgica, por ejemplo, por medio del antagonismo sobre los receptores 5-HT<sub>2</sub>, incrementando indirectamente la liberación de dopamina y noradrenalina, o mediante el bloqueo sobre el receptor 5-HT<sub>2A</sub> mejorando la sintomatología ansiosa, el estado de ánimo y el sueño. La combinación de antidepresivos y antipsicóticos atípicos, han mostrado tener efectos antidepresivos que no habían sido observados con cada fármaco por separado, existen estudios que apoyan la eficacia de la Olanzapina (Shelton y col., 2001), la Risperidona (Shelton y Stahl, 2004) y la Quetiapina (Post y Calabrese, 2004), principalmente en depresiones bipolares así como otros trabajos realizados con depresiones unipolares (Carson y col., 2004).

Por último, se han encontrado indicios de eficacia con agentes anticonvulsivos en el tratamiento de la fase aguda de la manía, el *ácido valproico* es el ejemplo más representativo. Se

crea que actúa inhibiendo la función de los canales de sodio y/o calcio, estimulando la acción inhibitoria del ácido gamma-aminobutírico (GABA) y reduciendo la acción excitadora del glutamato.

L. Combinaciones farmacológicas

La depresión mayor es con mucha frecuencia una enfermedad crónica que requiere de varias fases de tratamiento para obtener una remisión completa de los síntomas. Como señalan varios estudios (Crismon y col., 1999; Fava y col., 2003; Rush y col., 2004) en la mayor parte de los casos es necesario cambiar el denominado *agente de primera línea* (ISRS, IRND, IRN ASIR), que actúa mediante un solo mecanismo neurotransmisor, por agentes únicos que actúan mediante múltiples mecanismos neurotransmisores (IRSN, antagonista alfa 2, IMAO, ATC) o añadir un segundo fármaco (bupropión, buspirona, agonistas de la dopamina) para aumentar la eficacia del tratamiento (Trivedi, 2009).

Acción única	Acción dual no 5HT + NE	Acción dual 5HT + NE
<b>ISRS</b> ( <i>Fluoxetina</i> , <i>Citalopram</i> ) <b>IRN selectivo</b> ( <i>Reboxetina</i> )	<b>ASIR</b> ( <i>Nefazodona</i> ) <b>IRND</b> ( <i>Bupropión</i> )	<b>IRSN</b> ( <i>Venlafaxina</i> ) <b>IMAO</b> <b>ATC</b> <b>Antagonista alfa 2</b> ( <i>Mirtazapina</i> )

Monoterapias antidepresivas (adaptado de Stahl y col., 2002)

Monoterapia de neurotransmisor único	ISRS	IRND	IRN	ASIR
Monoterapia de neurotransmisor múltiple	IRSN	Antagonista alfa 2	IMAO	ATC
Combinado clásico	Agente de 1ª línea + Estabilizadores del estado de ánimo			
Combinado 5HT <sub>1A</sub>	Agente de 1ª línea + Buspirona			
Combinado cauteloso	ATC + IMAO			
Combinado insomnio/ ansiedad	Agente de 1ª línea + Sedantes (zaleplon) / Benzodiazepina			
Combinado tiroideo	Agente de 1ª línea + T3/T4			

Combinados unipolares (adaptado de Stahl y col., 2002)

## Introducción

Tratamiento	Ventajas	Desventajas
<i>Inhibidores de la recaptación de 5-HT, NA y DA</i>	Mayor eficacia sobre todo en la anhedonia y disminución de la disfunción sexual	Riesgo de dependencia, abuso y psicosis
<i>Antagonistas duales inhibidores de la recaptación de monoaminas (IRS y/o IRN) y antagonistas alfa 2-AR noradrenérgicos</i>	Mayor eficacia, inicio más rápido, mejora de la función cognitiva y sexual	Aumento de la presión arterial, riesgos coronarios
<i>IRS y antagonista H<sub>3</sub></i>	Mejora de la función cognitiva y menor riesgo de la obesidad	Empobrecimiento del sueño
<i>IRS y facilitador del receptor AMPA</i>	Mayor eficacia, mayor recuperación neuronal, mejora de la cognición y del sueño	Neurotoxicidad
<i>IRS y antagonista NK<sub>1</sub></i>	Mayor eficacia, inicio más rápido, control de los síntomas somáticos (nauseas y dolor) y de la ansiedad.	Sin determinar (menor que para los ISRS)
<i>IRS y antagonista GR/CRF<sub>1</sub></i>	Propiedades ansiolíticas y mejores resultados en depresión con síntomas psicóticos Mejora de los trastornos del sueño, tolerancia en los términos de efectos secundarios sexuales, y falta de síntomas de abstinencia después de la interrupción brusca del tratamiento	Bloqueo excesivo de las acciones favorables de los glucocorticoides/eje HPA
<i>Agomelatonina con agonistas 5-HT<sub>2C</sub></i>		Pocos efectos adversos y leves mareos
<i>Inhibidor de la glucógeno sintasa cinasa – 3(GSK-3)</i>	Mayor eficacia y recuperación neuronal	Efectos generales sobre el sistema nervioso central y periférico
<i>Agonistas de receptores de NPY</i>	Propiedades ansiolíticas, regula la respuesta al estrés	Menores que para los ISRS
<i>Antagonistas 5HT<sub>2A</sub> o 5HT<sub>2C</sub></i>	Mejora la función sexual y el sueño y frena la respuesta de estrés mediada por el eje HPA	
<i>ISRS + agonista parcial 5HT<sub>1A</sub></i>	Potenciación ISRS	
<i>Estimuladores BDNF (Factor neurotrófico derivado del cerebro)</i>	Revertir y prevenir los efectos del estrés en el hipocampo	

Nuevos antidepresivos en desarrollo (obtenido de Nestler 2008; Millan, 2009)

#### **2.1.4. Terapias no farmacológicas**

##### **A. Estimulación Magnética Transcraneal (EMT)**

La EMT es una técnica no invasiva, segura e indolora que permite modificar la excitabilidad y función cortical generando cambios fisiopatológicos claros. Actualmente se cuenta con suficiente evidencia que acredita que la EMT a altas y bajas frecuencias aplicadas sobre la corteza prefrontal derecha e izquierda, genera efectos antidepresivos eficazmente y también se ha estudiado la eficacia sobre otras patologías como la manía, esquizofrenia, TOC y estrés postraumático. En cuanto a sus efectos negativos, existen algunos casos de episodios maníacos e hipomaníacos en pacientes depresivos y bipolares luego de recibir EMTr (repetida) a alta frecuencia. También se ha observado la presencia de psicosis en pacientes depresivos no psicóticos. En todos los casos, la incidencia es baja, los síntomas son transitorios y reversibles tras la suspensión de la estimulación o con tratamiento farmacológico (Loo y Mitchell, 2005).

##### **B. Terapia Electroconvulsiva (TEC)**

La TEC generalmente se considera el tratamiento más efectivo para la depresión grave, y puede ser particularmente eficaz para los pacientes con síntomas melancólicos y depresión refractaria. La TEC no tiene eficacia a largo plazo, con una tasa de recaída que supera el 50% al año tras el cese del tratamiento. Como tal, la APA recomienda la terapia con antidepresivos durante el período posterior a la terapia electroconvulsiva. Las reacciones adversas comunes asociadas con TEC incluyen confusión temporal, pérdida de memoria y dolor de cabeza (Sonawalla y Fava, 2001).

##### **C. Estimulación Craneal Profunda (ECP)**

La colocación de electrodos de estimulación en el SNC resulta una técnica eficaz para el tratamiento de la depresión grave y refractaria, a pesar de que es un campo en desarrollo. Puede estar indicada para algunos pacientes con depresión grave por presencia de síntomas psicóticos o riesgo de suicidio o pacientes cuya depresión ha demostrado ser resistente al tratamiento farmacológico y los que no pueden tolerar la farmacoterapia. Es considerada la intervención aguda más eficaz para la depresión grave, aunque la tasa de recaídas asociadas es alta y la administración es compleja en relación con tratamientos farmacológicos estándar (Greenberg y Rezai, 2003).

D. Tratamientos Psicoterapéuticos

El uso de estrategias psicoterapéuticas conforman junto con el tratamiento farmacológico las dos herramientas fundamentales de intervención en el tratamiento de los trastornos del estado de ánimo. Históricamente, los antidepresivos han sido considerados el estándar en el tratamiento ganando terreno a la psicoterapia, sobre todo en los últimos años con la reducción de los problemas asociados a los medicamentos. Sin embargo, no todo el mundo responde a los medicamentos y no hay evidencia de que estos sean capaces de reducir, de manera significativa, el riesgo de recaídas y recurrencia (Cuijpers y col., 2008a). La psicoterapia resulta ser, al menos, igual de eficaz que el tratamiento farmacológico en depresiones leves a moderadas. En los casos severos, la combinación de ambos tratamientos es considerado como el tratamiento de elección (de Matt y col., 2007). Además, parece haber evidencias que destacan los efectos duraderos de la psicoterapia, que reducirían el riesgo posterior de forma que los medicamentos no pueden. Por último, las tasas de abandono son menores en las intervenciones psicológicas en comparación con los tratamientos farmacológicos. Respecto a la psicoterapia, aún no está claro si todas las psicoterapias (terapia cognitivo-conductual, terapia de conducta, tratamiento psicodinámico, técnica de solución de problemas, psicoterapia interpersonal y terapia psicosocial) son igualmente eficaces, pero no parece haber ninguna indicación de que una de estas terapias sea más eficaz, con la excepción de la Psicoterapia Interpersonal (PI) (Cuijpers y col., 2008b).



### 3. La Serotonina

Hace ya casi un siglo, algunos fisiólogos dedicados al estudio de los mamíferos encontraron un material vasoconstrictor en el suero sanguíneo. Al coagularse la sangre, en el suero resultante había factores que inducían la vasoconstricción, resultado de la contracción del músculo liso que rodea los vasos sanguíneos. Unos años más tarde, alrededor del cambio de siglo se identificaron las plaquetas como la fuente de esta sustancia y en 1948 el grupo de Rapport consiguió aislar esta sustancia a la que dieron el nombre de serotonina, que identificaron como 5-hidroxitriptamina (5-HT) (Hoyer y col., 1994).

En la actualidad se sabe que la 5-HT es una sustancia perteneciente a las aminas biógenas que actúa como neurotransmisor y neuromodulador, cumpliendo un papel importante en el estado de ánimo, la ansiedad, el sueño, y que se distribuye por todo el organismo ejerciendo múltiples funciones. Está presente en vertebrados, en tejidos de algunos invertebrados, e incluso en plantas, localizándose en el caso de los mamíferos, en un 90% en el sistema enterocromafín del tracto gastrointestinal y el resto en plaquetas (8-9%) y en neuronas triptaminérgicas del sistema nervioso central y el sistema nervioso entérico (1-2%) (Frazer y Hensler, 1990). Hasta 1953, no se descubriría la presencia de 5-HT en el cerebro (Twarog y Page, 1953) y su descubrimiento como neurotransmisor llegó en la década de los 80. Se trata de un neurotransmisor tipo I, siguiendo la clasificación de Tohyama (1992), caracterizado por su aparición en el SNC en fases anteriores al nacimiento que aumenta y se distribuye durante el desarrollo hasta la adolescencia y que alcanza un nivel estable de expresión en la adultez (Frazer y Hensler, 1990).

#### 3.1. Relación anatómica

Como mencionamos en el apartado anterior, la mucosa intestinal, así como, la glándula pineal son los tejidos con más alta concentración de 5-HT en el organismo de los mamíferos. En el SNC las neuronas que contienen 5-HT se concentran en la línea media de la protuberancia y el bulbo, especialmente en los núcleos dorsal y medial del rafe y, en menor medida, en el locus coeruleus, el área postrema y el área interpeduncular, de donde emergen proyecciones caudales y ventrales. Los *núcleos del rafe* son un conjunto de neuronas distribuidas en nueve grupos (B1 a B9), localizados a lo largo de toda la longitud del tronco encefálico, centrado alrededor de la formación reticular. Los axones de las neuronas de los núcleos del rafe terminan en la *corteza frontal*, aumentando el tono del estado de ánimo, en los *ganglios basales* (alteraciones en esta

conexión podrían estar relacionados con los movimientos estereotipados característicos de la compulsión), en las *áreas límbicas* (asociado con procesos de ansiedad), en el *hipotálamo* (relacionado con las alteraciones en la ingesta de comida como anorexia, bulimia y pérdida de peso sin hacer régimen), en la *formación reticular* (relacionado con el control del sueño), en la *médula espinal* (relacionado con la ausencia de placer sexual en la depresión frente a la conducta sexual excesiva en el trastorno bipolar, control de los orgasmos y la eyaculación,) y en la *amígdala*, encargada de la formación y almacenamiento de memorias asociadas a sucesos emocionales y modulación de la memoria (Sheline y col., 2001). En resumen, en las proyecciones hacia las astas dorsales de la médula espinal, la 5-HT está involucrada en la percepción del dolor, vasoconstricción del músculo liso, agregación plaquetaria, peristaltismo intestinal, contracción urinaria y broncoconstricción y a través de las proyecciones ventrales hacia los ganglios basales, glándula pineal, sistema límbico y córtex cerebral, la 5-HT modula funciones neuroendocrinas, cognitivas y afectivas dentro de las cuales se encuentran la regulación del afecto, el sueño, el apetito, la función sexual y el control motor.

Es importante tener en cuenta que, la asociación con los núcleos del rafe no es exacta, ni todas las neuronas serotoninérgicas del encéfalo se localizan en núcleos del rafe ni todas las neuronas de dichos núcleos producen 5-HT (Frazer y Hensler, 1990).

### 3.2. Estructura

La 5-HT presenta unas características moleculares muy interesantes, posee la combinación de un grupo hidroxilo en la posición 5 del núcleo indol y una amina nitrogenada primaria que actúa como aceptador de un potón a pH fisiológico. Ello hace a la 5-HT una sustancia hidrofílica y como tal, no traspasa la barrera hematoencefálica fácilmente. En consecuencia su descubrimiento indicó que la 5-HT estaba siendo sintetizada en el propio cerebro, sin embargo no todas las células que contienen 5-HT la sintetizan. Por ejemplo, las plaquetas no sintetizan 5-HT sino que acumulan la 5-HT del plasma por un mecanismo de transporte activo que se encuentra en la membrana de las plaquetas.

### 3.3. Síntesis, almacenamiento y liberación

La 5-HT es sintetizada fundamentalmente en dos zonas: a nivel central en los núcleos localizados en el tallo cerebral, y a nivel periférico en las células enterocromafines intestinales y en células serotoninérgicas del plexo mientérico. En el cuerpo, la 5-HT es sintetizada desde el aminoácido triptófano en una vía metabólica corta que involucra dos enzimas: triptófano-5-

hidroxilasa (TPH) y una L-aminoácido aromático descarboxilasa (DDC). La reacción mediada por TPH es una etapa limitante en la vía. Se han observado dos isoformas de la TPH: la TPH1, localizada en varios tejidos (Nakamura y Hasegawa, 2007) y la TPH2, que es una isoforma cerebro-específica, (Zhang y col., 2004). Hay evidencia de polimorfismos genéticos en ambos tipos que influyen en la susceptibilidad a la ansiedad y la depresión y existen indicios de que las hormonas ováricas pueden afectar la expresión de la TPH en varias especies, sugiriendo un posible mecanismo para la depresión post-parto y el síndrome de premenstrual (Anttila y col., 2009).

La 5-HT ingerida por vía oral no pasa a las vías serotoninérgicas del SNC porque ésta no cruza la barrera hematoencefálica, pero sí el triptófano y su metabolito 5-hidroxitriptófano (5-HTP) mediante los cuales la 5-HT es sintetizada. Estos agentes cruzan dicha barrera, están disponibles como suplementos dietarios y pueden ser agentes serotoninérgicos efectivos. Aproximadamente el 2% del triptófano presente en la dieta se utiliza para la síntesis de 5-HT. Una vez sintetizada, la 5-HT pasa a la sangre donde es captada por las plaquetas, el transporte de la 5-HT al interior de las plaquetas se encuentra regulado por el  $Ca^{2+}$  intracelular. La 5-HT podrá entonces funcionar como una hormona local y como un neurotransmisor al estar localizada tanto en las células enterocromafines de la mucosa intestinal como en las neuronas del sistema nervioso (Jorgensen, 2007). Sin embargo, su biodisponibilidad no depende exclusivamente de la “nueva” molécula sintetizada, sino que, también, existen mecanismos de recaptación de 5-HT en las células que la secretan. Los lugares de recaptación de 5-HT se encuentran en las terminales nerviosas, especialmente del SNC, y en diversas células especializadas como son las plaquetas y los enterocitos. La 5-HT está almacenada en las vesículas de los terminales presinápticos y sólo se encuentra libre en el citoplasma entre un 10 ó 20% como reserva funcional. El mecanismo de recaptación es llevado a cabo mediante un transporte activo secundario específico para este fin.

La liberación de 5-HT desde la mucosa intestinal, está regulada por la actividad neural y humoral sobre las células enterocromafines, estas células parecen estar dotadas de diferentes receptores inhibitorios  $\alpha_2$ -adrenérgicos, gamma aminobutíricos, histaminérgicos H3 y 5-HT<sub>4</sub>, y receptores estimuladores  $\beta$ -adrenorreceptores, receptores muscarínicos, nicotínicos y 5-HT<sub>3</sub> (Chen y col., 1997). La liberación tiene lugar por un proceso de exocitosis, inducido por despolarización de la membrana dependiente de  $Ca^{2+}$ , que estimula la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. La actividad de la 5-HT en la sinapsis finaliza principalmente debido a procesos de recaptación, mediante SERT. El proceso de recaptación de 5-HT es saturable, posee una gran afinidad por la 5-HT, es dependiente de  $Na^+$  y  $Cl^-$  y precisa de energía metabólica. Esta

energía metabólica se utiliza para mantener un gradiente de  $\text{Ca}^{2+}$  del cual es dependiente el funcionamiento de SERT, proporcionando la fuerza requerida para el transporte.

### **3.4. Metabolismo**

El metabolismo de la 5-HT es objeto de dos reacciones de conjugación para facilitar su excreción. La principal vía metabólica es la desaminación oxidativa por la MAO, dando origen a su principal metabolito inactivo, el ácido 5-hidroxi-indolacetaldehído. Este producto a continuación es oxidado por la enzima aldehído deshidrogenasa dependiente de glicerol 3-fosfato deshidrogenasa ( $\text{NAD}^+$ ), obteniéndose 5-HIAA como producto final. Todos estos enzimas son moléculas intracelulares, lo cual confirma que la 5-HT es previamente captada por las células para proceder a su inactivación (Iversen, 2000). Existen dos isoformas de la MAO, MAO-A y MAO-B, integradas en la membrana mitocondrial externa, en neuronas, glía y otras células. La MAO-A tiene mayor afinidad por la 5-HT, y curiosamente, la forma de MAO expresada de forma predominante en las neuronas serotoninérgicas es la MAO-B. Probablemente esto explica porque la 5-HT no empieza a sufrir desaminación a menos que la cantidad de ésta en la célula sea elevada, lo cual, además, posiblemente sea necesario para la acumulación de 5-HT en las vesículas.

### **3.5. Receptores de 5-HT**

La 5-HT presenta una gran diversidad de efectos que son mediados por su unión a diversos receptores específicos de membrana. Tanto la 5-HT como sus receptores están presentes en el SNC y SNP, así como en numerosos tejidos no neuronales del intestino, sistema cardiovascular y células sanguíneas.

Hasta el momento, se han identificado hasta siete miembros dentro de la familia de receptores de 5-HT (5-HT<sub>1</sub>-5-HT<sub>7</sub>) y diversos subtipos incluidos en algunos de estos miembros. Ello ha conducido a la descripción y caracterización de un total de hasta 16 tipos diferentes (Barnes y Sharp, 2008; Millan y col., 2008). Todos ellos son receptores metabotrópicos, acoplados a proteínas G, con la excepción de los receptores 5-HT<sub>3</sub>, que son ionotrópicos, actuando a través de los mecanismos de los canales iónicos. Actúan principalmente por medio de la activación de sistemas de segundos mensajeros: los receptores 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>5</sub> están asociados a la estimulación de la actividad de la AC; los receptores 5-HT<sub>2</sub> producen la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP<sub>2</sub>) de la membrana y aumentan la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular; los receptores 5-HT<sub>3</sub> incrementan la afluencia de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ ; y los receptores 5-

HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub> aumentan la actividad del AMPc. Además, de esta clasificación tradicional de los receptores de 5-HT, parece evidente que la localización subcelular, la distribución dinámica de la membrana plasmática y el acoplamiento de los receptores son regulados por lípidos y proteínas asociadas en microdominios de membrana, denominados balsas lipídicas (Björk y col., 2010).

Los *receptores 5-HT<sub>1</sub>* comprenden 5 subtipos: 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub> (Barnes y Sharp, 1999). Se encuentra en regiones límbicas y están implicados en la ansiedad y control del estado afectivo (Sullivan y col., 2005; Lanzemberger y col., 2007). Los receptores **5-HT<sub>1A</sub>** son los primeros receptores de 5-HT que fueron secuenciados (Albert y col., 1990). Se localizan principalmente en los cuerpos neuronales, pudiendo ser tanto presinápticos, regulando la fuerza de disparo de las neuronas serotoninérgicas, como postsinápticos, ejerciendo una función primordialmente inhibitoria. Los receptores 5-HT<sub>1A</sub> están implicados en numerosos efectos psicológicos y conductuales, su regulación por agonistas como la buspirona o la gespirona se emplea en el tratamiento de la ansiedad y la depresión. Tras el tratamiento con antidepresivos ISRS el aumento de 5-HT<sub>1A</sub> extracelular, causado por el bloqueo del transportador SERT, provoca una disminución en la liberación de 5-HT vesicular debido a la activación de un mecanismo de feedback negativo facilitado por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> presinápticos. Sin embargo, no se observa una reducción en los sitios de unión al receptor, una posible explicación que se ha planteado es que quizá la desensibilización ocurre a nivel del factor de proteína G acoplado, lo que estaría alterado sería la vía de señalización de la 5-HT y no el receptor concreto (Kelly y col., 1997). Los receptores 5-HT<sub>1B</sub> parecen actuar como autorreceptores terminales, de modo que su activación produce un aumento significativo de los niveles de 5-HT mediado por SERT, sin la implicación de 5-HT<sub>1A</sub>. Los receptores 5-HT<sub>1D</sub> parecen ser autorreceptores del rafe implicados en la autoinhibición (Piñeyro y Blier, 1996; Davidson y Stamford, 2000) y los receptores 5-HT<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>, a pesar de haberse descrito su localización (Leonhardt y col., 1989), su secuencia de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) (Levy y col., 1994) y sus características farmacológicas (Meneses, 1997), no se han encontrado evidencias claras de la función que realizan, pero se cree que están implicados en el aprendizaje y la memoria (Bai y col., 2004).

El grupo de *receptores 5HT<sub>2</sub>* se compone de tres subtipos diferentes: 5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2B</sub> y 5HT<sub>2C</sub>. Estos receptores han sido localizados tanto en el SNC como en el SNP (Leysen, 2004). En el SNC se ha demostrado su presencia en la corteza cerebral, los ganglios basales, el hipocampo, el tálamo, el cerebelo y el hipotálamo. El receptor 5-HT<sub>2A</sub> se encuentra ampliamente distribuido en el cerebro, especialmente en las neuronas piramidales glutamatérgicas de la corteza y del hipocampo, así como, en las interneuronas GABAérgicas, mediando en la

regulación inhibitoria de la actividad neuronal. También, ha sido localizado en el núcleo accumbens, la sustancia negra y en el área tegmental ventral (Roth y col., 1998). El receptor 5-HT<sub>2C</sub> se concentra sobre todo en el plexo coroideo y su presencia es más moderada y el receptor 5-HT<sub>2B</sub> es escaso en el cerebro. Los receptores 5HT<sub>2A</sub> y 5HT<sub>2C</sub> se consideran receptores serotoninérgicos postsinápticos especialmente importantes, ya que están implicados en las diversas acciones fisiológicas de la 5-HT en varias vías serotoninérgicas del SNC (Serretti y col., 2004). Los receptores 5HT<sub>2</sub> son, todos ellos, miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (GPCR). La activación de estos tres receptores, a través de la proteína Gq, produce una activación de los enzima fosfolipasa C y fosfolipasa A que, a su vez, incrementan la tasa de degradación del inositol bifosfato (IP<sub>2</sub>), que se convierte en diaglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>). Los segundos mensajeros DAG e IP<sub>3</sub> provocan el desplazamiento de la proteína cinasa G (PKG) y la apertura de los canales de Ca<sup>2+</sup>, respectivamente. El desplazamiento de la PKG fosforila canales iónicos y proteínas contráctiles y el incremento de la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular provoca la contracción del músculo liso, el aumento de la secreción de glándulas exocrinas, aumento de la liberación de hormonas y aumento de la fuerza y contracción del corazón (Dwivedi y col., 1998). Estos receptores son dianas principales para una amplia variedad de fármacos que van desde los antipsicóticos, los antidepresivos y los antihistamínicos, con acción antagonista 5-HT<sub>2</sub>, hasta los alucinógenos como la dietilamida del ácido d-lisérgico (LSD), los derivados metil- indol-etilamina, los sustitutos metoxi-sustituto-fenilamina propanes y los compuestos que inducen ataques de pánico (por ejemplo, el agonista no selectivo del receptor serotoninérgico m-CPP, m-clorofenilpiperazina), que poseen acción agonista. La unión de estos compuestos a los receptores 5-HT<sub>2</sub> desencadena procesos que regulan su sensibilidad. Las teorías clásicas sobre la regulación de los receptores 5-HT<sub>2</sub> predicen que el bloqueo a largo plazo de estimulación agonista provoca la regulación al alza e hipersensibilización de los receptores. Por el contrario, la activación persistente del receptor conduce a una disminución de la capacidad de respuesta del receptor (Van Oekelen y col., 2003). Los mecanismos de regulación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2C</sub> han generado un creciente interés, sobre todo, a partir de que algunos estudios mostraran que los fármacos antidepresivos regulaban a la baja los receptores β-adrenérgico, α-adrenérgicos y los receptores serotoninérgicos. Estos receptores no se ajustarían a los mecanismos clásicos de regulación, pues parecen disminuir su capacidad de respuesta ante la estimulación crónica con agonistas, pero también (y paradójicamente) tras el tratamiento crónico con antidepresivos, antipsicóticos y otros antagonistas (Van Oekelen y col., 2003).

El subtipo **5HT<sub>2A</sub>** ha sido el más estudiado ya que su función es esencial para muchos procesos fisiológicos incluyendo la agregación plaquetaria (Gómez-Gil y col., 2000), la contracción del músculo liso (Hoyer y col., 1986) y la modulación del estado de ánimo y la percepción (Manji y Duman, 2001; Nestler y col., 2002; Coyle y Duman, 2003). Un gran número de fármacos median sus acciones modulando el número y/o la actividad de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y sus acciones sobre ellos se utilizan en el tratamiento de muchos trastornos, incluyendo la esquizofrenia, la depresión, y los trastornos de ansiedad (Meltzer y col., 2003).

La exposición del receptor 5-HT<sub>2A</sub> a agonistas conduce a su desensibilización, a la disminución de su capacidad de respuesta. Varios son los estudios que han demostrado que la activación prolongada, tanto *in vitro* como *in vivo* del receptor 5HT<sub>2A</sub> conduce a la disminución de su capacidad de respuesta funcional (Van Oekelen y col., 2003). El mecanismo de desensibilización de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> está mediado por PKG, determinado por dos tipos de proteínas, las GRKs (proteínas G acopladas al receptor cinasa) y las arrestinas, que intervienen físicamente en el acoplamiento del receptor fosforilado y la proteína G, frenando de esta manera la señal. La desensibilización también puede ser mediada por la fosforilación de cinasas de segundos mensajeros como la proteína cinasa A (PKA) y C (PKC) o la cinasa dependiente de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina (CaMK). En plaquetas, por ejemplo, se ha observado que un inhibidor selectivo de la PKC puede atenuar la desensibilización agonista-dependiente del receptor 5-HT<sub>2A</sub> (Kagaya y col., 1990). Además de la fosforilación, otro componente de la desensibilización de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> es la internalización, los receptores activados por agonistas son secuestrados de la superficie de la membrana plasmática a un compartimento intracelular distinto asociado a la membrana. Por ejemplo, en estudios *in vitro* se ha observado que los receptores 5-HT<sub>2A</sub> sufren una rápida internalización en endosomas tras la exposición a un agonista a través de vesículas recubiertas de clatrina. Sin embargo, también se ha observado que en las células HEK-293 (células embrionarias humanas de riñón) el receptor 5-HT<sub>2A</sub> no necesariamente sufre una internalización, la inhibición de la internalización del receptor 5-HT<sub>2A</sub> en las células HEK-293 da lugar a un aumento de la resensibilización que sugiere que existen nuevas formas de regulación de este receptor en tipos específicos de células (Gray y col., 2001; Gray y Roth, 2001). En general los estudios *in vivo* han demostrado que los receptores 5-HT<sub>2A</sub> son regulados a la baja tras una activación agonista prolongada, pero en los estudios *in vitro* se ha observado que la exposición ante un agonista puede inducir la regulación a la baja, la regulación al alza o ningún cambio en la densidad de receptores 5-HT<sub>2A</sub>. Parece que el ambiente o “fondo” celular en el que se expresa el receptor determina su regulación, variando en función del sistema de expresión heterólogo utilizado y, curiosamente, difiere en ambos sistemas de expresión homóloga y

heteróloga. Lo que indica que los mecanismos de desensibilización de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> pueden ser distintos de los que participan en la regulación a la baja y la internalización (Grotewiel y Sanders-Bush, 1994).

Respecto a la regulación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> por antagonistas, los estudios *in vivo* han mostrado que los cambios adaptativos de los receptores después de la administración de antagonistas 5-HT<sub>2A</sub> son diferentes de las de otros sistemas de receptores, es decir, no se produce el aumento en la densidad de los receptores como cabría esperar, sino que, la administración crónica de compuestos con acción antagonista 5-HT<sub>2A</sub> conducen a una reducción de los niveles del receptor (es decir, la B<sub>max</sub> o capacidad máxima de unión del receptor se reduce). En cambio, en los estudios *in vitro* los resultados no son tan consistentes, en ellos se ha visto que la regulación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> por el antagonista puede variar dependiendo del antagonista utilizado, de la línea celular huésped y de la especie del receptor. De hecho, se ha observado que la B<sub>max</sub> del receptor 5-HT<sub>2A</sub> en algunos casos disminuye, en otros aumenta, e incluso, no cambia tras la exposición a un antagonista. La explicación que se ha dado es que *in vitro*, los efectos de la exposición antagonista crónica sobre los receptores 5-HT<sub>2A</sub> depende del sistema de modelo celular (Grotewiel y Sanders-Bush, 1994). A pesar de que, la regulación antagonista de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> sigue siendo poco conocida, algunos estudios interesantes como los de van Oekelen sugieren que la reducción observada en los receptores tras el tratamiento crónico con antagonistas es realmente una regulación a la baja y no una simple disminución del número de lugares de unión al receptor. Según este autor sería el proceso de internalización de los receptores inducida por el antagonista el mecanismo que causa la paradójica regulación a la baja de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> por antagonistas.

En depresión, los inhibidores de la MAO bloquean la degradación de la 5-HT disponible en la sinapsis, dando lugar a un incremento de neurotransmisor en la sinapsis y, como consecuencia del bloqueo de larga duración de la MAO, los receptores se desensibilizan o se regulan a la baja. Por su parte, los ISRS bloquean la bomba de recaptación de 5-HT provocando que, de manera similar a lo que ocurre con los IMAO, haya más neurotransmisor disponible y los receptores se regulen a la baja. El mecanismo subyacente de los ISRS e IMAO podría ser la desensibilización provocada por el agonista debido al aumento en los niveles de 5-HT sináptica, sin embargo, se han obtenido algunos efectos controvertidos con los ISRS como, por ejemplo, la regulación al alza de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> tras el tratamiento con citalopram, fluoxetina y paroxetina (Peroutka y Snyder, 1980; Stolz y col., 1983; Koshikawa y col., 1989; Cadogan y col., 1993; Hrdina y Vu, 1993; Goodnough y Baker, 1994; Klimek y col., 1994; Laakso y col., 1996; Bakish y col., 1997; Li y col., 1997). Los antidepresivos con actividad antagonista del



receptor 5-HT<sub>2A</sub> como los ATC provocan una regulación (atípica) a la baja de estos receptores y, además, existen evidencias de que el tratamiento crónico en ratas con antidepresivos causa la regulación a la baja de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> corticales, por ello se ha planteado la hipótesis de que estos receptores, realmente, pueden estar involucrados en la patología de la enfermedad depresiva (Willins y col., 1998). En primer lugar, porque la regulación a la baja de los receptores es independiente de los cambios en la disponibilidad de 5-HT y las lesiones en los terminales serotoninérgicos provocadas por neurotoxinas no impiden la regulación a la baja de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> por antidepresivos y, en segundo lugar, porque los antidepresivos no aumentan la degradación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, no disminuyen su transcripción y/o traducción, y los estudios *in vivo* no muestran la existencia de cambios en los niveles de ARNm del receptor 5-HT<sub>2A</sub>. Además, Willins y col. presentaron pruebas de que los antagonistas 5-HT<sub>2A</sub> provocan la internalización del receptor tanto *in vitro* como *in vivo* y demostraron que la mianserina, un antidepresivo con propiedades antagonistas de los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, también producen la internalización de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> *in vivo*. Existe, también, otro grupo de antidepresivos, los denominados ASIR (antagonistas 2A e ISRS) como la nefazodona, que son más selectivos que los ATC para bloquear los receptores 5-HT<sub>2A</sub> y que actúan tanto presináptica como postsinápticamente, “explotando” el antagonismo natural entre los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub>. La estimulación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> disminuye la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> pero si los receptores 5-HT<sub>2A</sub> son bloqueados se pierde la influencia inhibitoria sobre la estimulación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> y los receptores 5-HT<sub>1A</sub> quedan desinhibidos aumentando los niveles de 5-HT y, por tanto, regulando a la baja el número de receptores.

Asimismo, cabe señalar, que el papel de los receptores 5HT<sub>2A</sub> ha sido bien estudiado utilizando como modelo periférico plaquetas humanas (Pandey y col., 1993; Mendelson, 2000). Las plaquetas poseen receptores 5HT<sub>2A</sub> funcionalmente activos vinculados al sistema de señalización fosfatidilinositol (Chaffoy y col., 1987), y su activación resulta en un cambio de forma y de agregación plaquetaria (Geaney y col., 1984). De hecho, las características farmacológicas de los receptores 5HT<sub>2A</sub> en el cerebro y en plaquetas parecen ser similares (Ostrowitzki y col., 1993), ya que ambos receptores 5HT<sub>2A</sub> en cerebro y plaquetas se han relacionado con el sistema fosfatidilinositol. Además, la secuencia de nucleótidos de ADN complementario (ADNc) del receptor 5HT<sub>2A</sub> en plaquetas humanas es idéntica a la del receptor en la corteza frontal (Cook y col., 1994). Esto sugiere la utilidad de las plaquetas como marcador periférico adecuado para el estudio de los receptores 5HT<sub>2A</sub> en los desórdenes psiquiátricos. Varios investigadores han señalado que el incremento del número receptores 5HT<sub>2A</sub> en pacientes deprimidos, en comparación con controles sanos, está asociado a la gravedad del estado

depresivo (Mendelson, 2000). Junto con las plaquetas, la reducción significativa de la densidad receptores 5HT<sub>2A</sub> también se ha observado en muestras periféricas de sangre y linfocitos (Padin y col., 2006), indicando la validez de los linfocitos como otro posible marcador periférico para estudiar el receptor 5-HT<sub>2A</sub> y su implicación en la depresión.

Por últimos los receptores 5HT<sub>3</sub> pertenecen a la gran familia de receptores con función de canales iónicos, similar a los receptores GABA. Se localizan en el sistema nervioso central y en el tracto gastrointestinal. Su función está relacionada con la motilidad, la secreción y absorción intestinal. Los receptores 5-HT<sub>4</sub> están relacionados básicamente con la función gastrointestinal, promoviendo el vómito y el vaciamiento gástrico. Los receptores 5HT<sub>5</sub> son probablemente los menos estudiados, hay pocos estudios realizados acerca de su función fisiológica y el sitio específico de unión de estos receptores. El receptor 5HT<sub>6</sub> fue clonado a partir de ADNc de rata. El gen humano también se ha clonado mostrando una homología en la secuencia del 89% con el equivalente de rata. El receptor se expresa endógenamente en tejido neuronal, aunque en ratas y humanos el ARNm del receptor se ha localizado en el cuerpo estriado, amígdalas, hipocampo y córtex. Sin embargo, no se ha detectado la presencia en órganos periféricos. En cuanto los estudios farmacológicos que se han realizado, se ha visto que los agentes antipsicóticos y antidepresivos tienen una alta afinidad y actúan como antagonistas de los receptores 5HT<sub>6</sub>. Finalmente, el receptor 5HT<sub>7</sub> ha sido clonado en ratón, rata, cobaya y especie humana. La distribución de los sitios de unión del receptor en el sistema límbico y en las regiones tálamo-corticales sugiere un posible papel de este receptor en la fisiopatología de los trastornos del estado de ánimo. De hecho los antipsicóticos y los antidepresivos como la clozapina, tienen una gran afinidad por el receptor 5HT<sub>7</sub>. Tras el tratamiento crónico con antidepresivos se ha observado una regulación a la baja de los receptores 5HT<sub>7</sub> (Mullins y col., 1999).

### **3.6. Actividad de la 5-HT**

La 5-HT juega un papel importante en numerosas situaciones fisiológicas y fisiopatológicas. Fundamentalmente el papel de la 5-HT ha sido descrito en los procesos en los que participa el SNC, entre los que destacan las alteraciones de la conducta y la depresión, así como, en los que participa el tracto gastrointestinal.

En el cerebro, la 5-HT es uno de los neurotransmisores más ampliamente distribuidos. Por medio de las extensas conexiones sinápticas de las fibras serotoninérgicas, la 5-HT está involucrada en numerosas funciones incluyendo el sueño, el apetito, temperatura, ansiedad, actividad motora, ritmo biológico, aprendizaje y memoria. La 5-HT, como ya hemos descrito,

está presente en numerosas zonas del cerebro, partiendo de los núcleos del rafe y de la región medial del puente y la corteza cerebral. En la mayoría de las áreas la 5-HT tiene una acción inhibitoria fuerte, mediada por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y asociada a la hiperpolarización de la membrana causada por el aumento en la conductancia del K<sup>+</sup>.

La alteración de la actividad serotoninérgica en el SNC parece estar involucrada en la aparición los trastornos del estado de ánimo, las conductas obsesivo-compulsivas, los trastornos psicóticos, los trastornos de la alimentación y los trastornos de ansiedad (Baumann y Bogerts 2001; Heim y Nemeroff 2001; Iqbal y van Praag, 1995).

Fuera del SNC, la 5-HT está presente en plaquetas, linfocitos, monocitos, macrófagos y mastocitos, en las células neuroendocrinas pulmonares, las células enterocromafines y en algunos otros tipos celulares. Hay un consenso en que las células cerebrales y enterocromafines son los principales productores de 5-HT. La 5-HT liberada a la circulación por las células enterocromafines es rápidamente absorbida por las plaquetas ya sea a través del SERT, SERT, y se almacena en gránulos densos de las plaquetas, que constituye casi todo el cuerpo total de la 5-HT circulante. En el SNC, la 5-HT se almacena en gránulos de secreción y es liberada por las neuronas serotoninérgicas en la sinapsis. Aquí, la acción de la 5-HT se termina por la absorción a través del transportador localizado en la membrana de los terminales de los axones serotoninérgicos y regresa a los terminales presinápticos donde es metabolizado (Jonnakuty y Gragnoli, 2008).

La 5-HT se libera de las plaquetas en respuesta a una serie de señales incluidas el contacto con el endotelio dañado, la isquemia y los agonistas del receptor 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>3</sub>. Las plaquetas liberadoras de 5-HT se unen a los receptores plaquetarios 5-HT<sub>2A</sub> logrando una respuesta débil de agregación, que se ve aumentada por el colágeno. La 5-HT participa en el mantenimiento de la homeostasia, ejerciendo un efecto vasoconstrictor directo y actúa, así mismo, en las células endoteliales para la liberación de óxido nítrico (NO), que funciona como un factor de relajación derivado del endotelio (Maurer-Spurej y col., 2004). De este modo, es de esperar que en los focos de inflamación, donde tiene lugar una agregación plaquetaria, los niveles de 5-HT aumenten a niveles muy superiores a los registrados en suero.

### **3.7. 5-HT y Sistema inmune**

La 5-HT tiene un peso significativo en los efectos inflamatorios e inmunológicos. Se ha descrito el papel de la 5-HT como una molécula de señalización que es captada por las células dendríticas (CDs) portadoras de antígeno tras ser liberada por las plaquetas en lugares de inflamación o lesión, o en terminaciones nerviosas cercanas, y secretada entre las CDs inmaduras

o en la interacción con las células T a través de la vía  $\text{Ca}^{2+}$  dependiente, exocitosis. Así, evidencias significativas indican que la 5-HT modula la activación de células T y B y su diferenciación, demostrando que esta monoamina está implicada en la generación de respuestas inmunitarias adaptativas (O'Connell y col., 2006). La activación de las células T requiere una zona de cohesión, de contacto directo con las CDs, conocido como *sinapsis inmunológica*. La sinapsis inmunológica (SI) se ha definido como la unión estable entre las células T y las células presentadoras de antígeno (CPA). Aunque hay varios tipos de SI con diferentes tipos de CPA y células T, el ejemplo más destacado es la unión formada por las CDs y las células T CD4 (Dustin y Colman, 2002). La formación de sinapsis inmunológica implica la reorganización del citoesqueleto celular y la redistribución de las moléculas receptoras de la superficie celular que contienen los péptidos antígenos para ser presentados a las células T.

Tanto en el sistema nervioso como en el sistema inmunológico la sinapsis es una unión estable entre dos células a través de la cual la información se transmite por secreción dirigida. El sistema nervioso y el sistema inmunológico utilizan estos contactos de superficie celular especializados para transmitir información directamente y transducir señales fuertemente controladas entre sus poblaciones celulares constituyentes. Cada uno de este tipo de sinapsis se articula en torno a una estructura de microdominio que comprende zonas centrales activas de exocitosis y endocitosis rodeada de dominios de adhesión. Las moléculas de superficie que pueden incorporarse en y alrededor de las zonas activas contribuyen a la modulación del estado funcional de la sinapsis (Dustin y Colmann, 2002).

Múltiples evidencias sugieren que existen muchas similitudes entre la sinapsis inmunológica y sinapsis neural: de los 16 subtipos de receptores de 5-HT, 8 de ellos han sido hallados en el sistema inmune de rata (Serafeim y Gordon, 2001), y se ha descrito la presencia del transportador de 5-HT (SERT), similar al presente en el SNC, en linfocitos humanos (Serafeim y col., 2003). La presencia de SERT en linfocitos puede proporcionar conocimientos sobre el papel potencial de la 5-HT en la función inmune y su relación con la neurobiología de los trastornos del estado de ánimo (Lima y Urbina, 2002).

La depresión se asocia con alteraciones inmunológicas graves (Maddock y Pariante, 2001). Durante la depresión hay una disminución de la proliferación de linfocitos y cambios significativos en el sistema inmune. Se han descrito, un aumento en el recuento de glóbulos blancos, un aumento en la respuesta inmunológica global, una disminución en la actividad de mitogénesis y de células Natural Killer (NK), y disminución del número de linfocitos (Irwin, 1999). Al mismo tiempo, varios factores frenan la activación de estas células inmunes lo que

## *Introducción*

induce a la liberación de sustancias denominadas mediadores inmunes como las citocinas, NO, interleucinas y el Factor de Necrosis Tumoral (TNF, Factor Necrosis Tumoral).

## **4. El Transportador de 5-HT: SERT**

Hace ya casi 5 décadas Axelrod (1961) introdujo el concepto de recaptación para explicar cómo la NA era internalizada por las terminales nerviosas simpáticas. Desde entonces multitud de trabajos se han centrado en el estudio de las propiedades funcionales y farmacológicas de los sistemas de recaptación de monoaminas, fundamentalmente los situados en el sistema nervioso central.

La recaptación es un importante proceso por el cual se finaliza la neurotransmisión, de hecho, se han descrito transportadores específicos para el GABA, la adrenalina, la NA, la DA, la 5-HT y para muchos aminoácidos, a los que, precisamente por estas características, se les ha conferido la propiedad de neurotransmisores.

### **4.1. Estructura y características generales de los transportadores de monoaminas**

La clonación de la proteína que codificaba NAT llevada a cabo en 1991 por Pacholczyk y col. supuso un avance considerable en el conocimiento de la biología de los transportadores de monoaminas. Asimismo, al comparar la secuencia de aminoácidos de NAT con el transportador de GABA clonado, se observó una significativa identidad entre ambos. Ello llevó a la identificación de una nueva familia de genes para las proteínas transportadoras de neurotransmisores.

Los transportadores de la membrana plasmática para las monoaminas DA, NA y 5-HT que, además, incluye a los transportadores del GABA y la glicina, pertenecen a la familia transportadora de solutos SLC6 (solute carrier family) dependientes de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ . Asimismo, estos transportadores DAT (de DA), NAT y SERT se caracterizan por ser las principales dianas de sustancias psicoestimulantes y adictivas como son las cocaína y anfetaminas.

La recaptación del neurotransmisor por estos transportadores está acoplada al cotransporte de iones de  $\text{Na}^+$  aprovechando su gradiente de concentración. La entrada de un sustrato va acompañada de la entrada de uno o dos iones de  $\text{Na}^+$  (según de que transportador se trate) y de un ión  $\text{Cl}^-$ , pero el transporte también depende, en algunos casos, de la concentración de  $\text{K}^+$  presente en el compartimento citoplasmático del transportador.

La clonación de SERT (Blakely y col., 1991; Hofmann y col., 1991) se llevó a cabo mediante el empleo de oligonucleótidos degenerados correspondientes a zonas de elevada similitud entre los transportadores de GABA y NA. Estos oligonucleótidos sirvieron como base

para crear nuevas sondas mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permitieran posteriormente realizar la criba de librerías de ADNc.

Todos estos transportadores poseen 12 dominios transmembrana con 20-24 residuos hidrofóbicos. Debido a la ausencia de una secuencia señal, parece ser que tanto el grupo amino como carboxi-terminal están situados en el citoplasma. Según el modelo propuesto, existen cinco bucles intracelulares y seis extracelulares bastante cortos (Pacholczyk y col., 1991; Hofmann y col., 1991). Hay un bucle extracelular grande entre los dominios transmembrana 3 y 4 que presenta diversos sitios de glicosilación.

Más concretamente, y con relación a la 5-HT, los trabajos de investigación realizados acerca del SERT han permitido determinar la secuencia codificante, el gen que expresa la proteína y su caracterización. Así, esta proteína ha mostrado tener 12 dominios transmembrana, poseer grupos amino y carboxi-terminal intracelulares y ser dependiente de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  para transportar 5-HT al interior celular, tal como hemos mencionado antes de modo general. También depende de la concentración de  $\text{K}^+$  en el medio intracelular. Especial interés presenta el trabajo realizado por Rammamoorthy y col. (1993a), cuyos resultados han conducido a la clonación, expresión y localización cromosómica del transportador de 5-HT humano. El gen humano para SERT (SLC6A4) se encuentra en el cromosoma 17q11.2, se extiende a la largo de 37,8 pb y contiene 14 exones, cuya transcripción y posterior traducción da lugar a una proteína de 630 aminoácidos. La secuencia de la proteína humana presenta una homología del 92% con la de rata (Lesch y col., 1993).

#### **4.2. Análisis de la relación entre la estructura y la función de SERT**

La función de SERT es transportar 5-HT desde el compartimento extracelular al interior celular. La identificación de los residuos y dominios que participan en la unión del sustrato y la translocación está siendo motivo de multitud de estudios. Los resultados han indicado que el ácido aspártico del dominio transmembrana 1 es crucial para reconocer el sustrato. Asimismo, el dominio transmembrana 12 ha mostrado ser determinante en la afinidad por los ATC (Barker y col., 1994), mientras que el dominio transmembrana 1 parece determinar la selectividad de SERT por el citalopram (Barker y col., 1998). Los dominios transmembrana 1 y 2 y el extremo amino terminal son importantes en la sensibilidad por la cocaína (Sandhu y col., 2002) y los residuos metionina 180, tirosina 495 y fenilalanina 513 parecen intervenir en la interacción de inhibidores (Mortensen y col., 2001) También el dominio transmembrana 3 parece ser crucial para la unión de 5-HT y de cocaína, y se encuentra localizado en la vía de traslocación (Chen y col., 1997).

### **4.3. Mecanismo de transporte**

El transportador SERT co-transporta el sustrato con un ión  $\text{Na}^+$  y un ión  $\text{Cl}^-$ , y la translocación implica la salida de un ión  $\text{K}^+$ . La unión de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y 5-HT a SERT induce un cambio conformacional en el transportador, lo cual permite exponer el sitio de unión hacia el otro lado de la membrana con la consiguiente translocación del sustrato y los iones. La reorientación del transportador supone un paso adicional que implica la unión y salida de iones  $\text{K}^+$  intracelulares.

Además del clásico mecanismo de transporte de sustrato, SERT también ha mostrado actividad tipo canal. Mediante técnicas electrofisiológicas se ha determinado la existencia de conductancias que no se explican a partir de la estequiometría fijada en la translocación del sustrato (Mager y col., 1994). No se ha determinado si estas conductancias son suficientes para alterar el potencial de membrana.

### **4.4. Localización de SERT**

Previamente a la clonación y establecimiento de la secuencia del transportador SERT, ya se había descrito la existencia de transporte de 5-HT en la membrana plasmática de las terminales presinápticas del cerebro (Axelrod e Inscoe, 1963) y de las plaquetas (Sneddon, 1973; Rudnick, 1977). Cuando en 1991 Blakely, en cerebro de rata, y Hofmann, en células RBL (células basofílicas obtenidas de ratas con leucemia), clonaron el transportador SERT, detectaron que el ADN correspondiente a esta proteína poseía características funcionales de transporte similares a las descritas en plaquetas y sinaptosomas de cerebro. Además, estudios posteriores concluyeron que la secuencia del ADNc de SERT obtenido bien de tejido neuronal o no neuronal, era idéntica dentro de la misma especie animal y era codificado por el mismo gen (Ramamoorthy y col., 1993b; Lesch y col., 1993).

El transportador de 5HT está ampliamente distribuido en diversos tejidos periféricos, tales como plaquetas, placenta, endotelio pulmonar y mastocitos (Fozard y Kalkman, 1992), retina (Lima y col., 1992; Lima y Schmeer, 1994), y linfocitos (Cedeño y col., 2005; Faraj y col., 1994; Urbina y col., 1999). La evaluación con el marcador específico de SERT, [3H] paroxetina, en linfocitos de sangre periférica de pacientes con depresión mayor, indicó una disminución en el número de sitios de unión de [3H] paroxetina en los pacientes no tratados y una recuperación parcial en los pacientes tratados durante seis semanas con antidepresivos ISRS como fluoxetina (Urbina y col., 1999) y mirtazapina (Peña y col., 2005) mostrando marcadas similitudes bioquímicas y farmacológicas descritas para el transportador en las sinapsis neuronales. Además,



se ha descrito una reducción del ARNm que codifica para el transportador SERT (Lima y col., 2005).

La presencia del transportador SERT muestra variaciones en los diferentes subtipos de células en el sistema inmunológico, como entre monocitos y linfocitos, e incluso, dentro de la misma población de linfocitos T, como ocurre en una variedad de neuronas serotoninérgicas en el sistema nervioso. Algunos estudios muestran un aumento en la proporción CD3+/CD8+ y en el porcentaje de células NK en depresión mayor (Pavón y col., 2006). En pacientes con VIH y depresión mayor no se han encontrado variaciones en el número de células CD4+ o CD8+, ni en la proporción CD4+ / CD8+ en comparación con pacientes no deprimidos (Huang y col., 2006). La existencia de transportadores SERT en células CD8+ y CD4+ es una evidencia clara de la presencia de diferentes sistemas serotoninérgicos en los linfocitos. Además, la existencia de SERT en poblaciones específicas de células T, que tiene lugar de manera similar en neuronas, estaría relacionado con la focalización de las funciones de la 5-HT en diferentes células del sistema inmune.

#### **4.5. Regulación fisiológica de SERT**

##### **4.5.1. Regulación de SERT por balsas lipídicas**

SERT ha sido localizado en estructuras especializadas de membrana plasmática que tienen una composición lipídica alterada, consistente en asociaciones estables entre los esfingolípidos y el colesterol, denominadas balsas lipídicas. Se ha observado que existe una estrecha asociación entre SERT y las balsas lipídicas, tanto en sistemas de expresión heterólogos como en el cerebro de rata, y que la inclusión de SERT en estos microdominios de membrana es fundamental para la actividad de la recaptación de la 5-HT. SERT está presente en una subpoblación de balsas lipídicas, que es soluble en Triton X-100, pero insoluble en otros detergentes no iónicos como Brij 58. La disgregación de las balsas lipídicas por depleción del colesterol celular da lugar a una disminución de la velocidad máxima de transporte de la 5-HT ( $V_{max}$ ), debido a la reducción del número de “viajes” de SERT, pero no afecta a la cantidad de transportadores SERT en la membrana. La eliminación de colesterol de las membranas causa una solubilidad parcial de SERT y cambia su afinidad, hace que se distorsione la recaptación, al provocar cambios conformacionales en la proteína (Huang y col., 2006). Se ha demostrado que el colesterol es necesario para la estabilización de la estructura de SERT, dado que el agotamiento de colesterol reduce (reversiblemente) la unión del ligando a SERT en células HEK que puede ser rescatado

con colesterol pero no con esteroides (Scanlon y col., 2001). Para muchos transportadores como SERT, la capacidad máxima de recaptación parece que tiene lugar mientras el transportador reside en las balsas lipídicas. Actualmente, parece claro que la asociación de SERT con las balsas lipídicas representa un mecanismo de regulación de la actividad del transportador y, en consecuencia, de la señalización serotoninérgica en el SNC, a través de la modulación del contenido de colesterol en la membrana celular. Además, se ha detectado la presencia de SERT, dentro de estas balsas lipídicas, tanto en la membrana celular como en la membrana de orgánulos asociados, lo que sugiere que la asociación con las balsas puede ser importante para el tráfico y la orientación de SERT.

En las neuronas, se ha demostrado que SERT está presente a lo largo del axolema y los terminales axónicos, y que en la membrana somática y dendrítica sus niveles son reducidos, lo que indica que la función está estrechamente relacionada a su posición en regiones específicas de la membrana (Tao-Cheng y Zhou, 1999).

Las balsas lipídicas son cruciales para la transducción de señales, la adhesión celular, la guía de axones, el tráfico vesicular y la transmisión sináptica. Mediante el control de los niveles de colesterol la actividad de SERT podría ser modulada en la sinapsis por una asociación dinámica con las balsas.

Por último, se ha demostrado que los microdominios de membrana o balsas contribuyen a numerosas enfermedades neurológicas y psiquiátricas, como trastornos del estado de ánimo (Donati y Rasenick, 2003) y EA (Ehehalt y col., 2003). Los fármacos utilizados en el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y en esquizofrenia se acumulan en balsas lipídicas y afectan a la señalización de las proteínas inmersas en ellas (Eisensamer y col., 2005). A pesar de que, el tratamiento antidepresivo crónico no altera el colesterol presente en la membrana, se ha observado que el tratamiento con antidepresivos químicamente distintos da lugar a cambios en la  $G\alpha_s$  (pero no de otras proteínas G) dentro de las balsas lipídicas y a una asociación más estrecha con la AC, dando lugar a un incremento en la actividad del AMPc y a cambios en la sinapsis. De este modo, los antidepresivos podrían ejercer parte de sus efectos terapéuticos mediante la alteración de un componente de la membrana celular o, en su caso, del citoesqueleto (Donati y Rasenick, 2003).

#### **4.5.2. Oligomerización de SERT**

Uno de los aspectos estudiados en relación con SERT es su oligomerización. Aunque la mayor parte de los modelos de transportadores son considerados como monómeros para desarrollar su función, algunos estudios han revelado una cierta naturaleza oligomérica de SERT.

Así, la expresión heteróloga de concatámeros de SERT mostró actividad transportadora en dímeros y tetrámeros (Chang y col., 1998) y también otros autores han detectado en la membrana plasmática de células HEK la existencia de oligómeros de SERT (Seeger, 2001).

#### 4.5.3. Regulación post-traducciona

El análisis de la secuencia de aminoácidos de transportadores de monoaminas ha revelado la presencia de diversos sitios consenso para la fosforilación de la proteína mediante la PKC, cinasas dependientes de AMPc (PKA) y de GMPc (PKG), y/o cinasas dependientes de CaMK.

La expresión del SERT, SERT, está regulada por la estimulación de los receptores, por la producción de segundos mensajeros, y la activación de cinasas. Así, diversos autores (Blakely y col., 1998; Bryan-Lluka y col., 2004) han mostrado que la expresión génica de SERT está regulada *in vitro* por vías dependientes de AMPc, de CaMK, de NO y del guanosín monofosfato cíclico (GMPc). Asimismo, resultados obtenidos *in vivo* muestran una regulación de SERT mediada por antidepresivos (White y col., 2005) y hormonas esteroideas (Wihlbäck y col., 2001).

Se han realizado numerosos trabajos respecto a la regulación post-traducciona de SERT. Así, esta proteína presenta tres sitios potenciales de fosforilación para la PKC: serina 8, serina 277 y treonina 603. Blakely y col. (1998) mostraron que SERT puede ser fosforilado tras la activación PKC y que dicho efecto conduce a la disminución de la actividad de dicho transportador debido a la internalización de la proteína. Sin embargo, en otros resultados obtenidos mediante técnicas de mutagénesis se ha observado que ninguno de los resultados de fosforilación por PKC parece estar directamente implicado en la regulación por esta cinasa (Sakai y col., 1997)

Los primeros estudios realizados en células HEK-93, transfectadas con el ADNc de SERT humano, mostraron que la PKC conduce a una internalización de la proteína de superficie celular de SERT, reduciendo la recaptación de 5-HT (Ramamoorthy y Blakely, 1999). Este efecto se debe a que los activadores de la PKC aumentan el nivel de fosforilación del transportador SERT. Sin embargo, estudios adicionales en las células HEK-SERT mostraron que los antidepresivos por sí solos no podrían afectar la capacidad de PKC para fosforilar SERT. La idea inicial era que los antidepresivos actuaban como antagonistas de SERT, provocando un aumento inmediato de la concentración de 5-HT en la sinapsis, y que los cambios en los niveles de SERT provocarían cambios neuroadaptativos, pero el resultado no fue tan claro.

Por otro lado, el efecto producido por el propio sustrato de 5-HT fue la reducción de la fosforilación de SERT inducida por PKC. Así, diversos estudios han demostrado que la 5-HT, a tiempo corto de exposición, previene la fosforilación dependiente de PKC en SERT y su

internalización. En este estudio realizado por Ramamoorthy y Blakely, se demostró que la fosforilación de SERT mediada por PKC, en células transfectadas HEK-293SERT, se redujo sustancialmente en presencia de 5-HT y, consecuentemente, los niveles de expresión de SERT en la superficie celular aumentaron. Esta acción de la 5-HT podría ser debida a la actividad sobre el propio transportador y estaría asociado a cambios conformacionales de SERT, según estos autores.

Si bien, la fosforilación de SERT mediada por PKC ocurre de forma aguda, con cambios rápidos en la actividad y en la distribución celular de SERT, la regulación de la expresión de SERT dependiente de PKA o PKG no se produce después de la activación aguda de la cinasa, a pesar del aumento en la fosforilación de SERT (Qian y col., 1997). Una explicación para estos resultados fue que, los cambios en la actividad y en la expresión de SERT, debido a la fosforilación por PKA o PKG, sólo se producen tras un período más largo de tiempo, con respecto a la PKC. Otra explicación es que quizá las células HEK no contienen las proteínas necesarias para afectar a la expresión de SERT mediante la fosforilación por PKA o PKG. La vía de señalización dependiente de PKG es un mecanismo de regulación al alza para la expresión de SERT. Miller y Hoffman (1994) observaron que el receptor A3 de adenosina regulaba la expresión de SERT en células de leucemia basófila RBL-2H3 mediante GMPc y NO con el consecuente incremento de la  $V_{max}$  para el transportador SERT. Esta regulación de SERT ocurría en condiciones fisiológicas como las de las células RBL-2H3, que expresan de forma endógena tanto SERT como el receptor de adenosina, ya que el aumento en el transporte de 5-HT no se asociaba con un incremento en la expresión del SERT en la superficie celular. Estudios posteriores como los de Zhu y col. (2004) observaron, a su vez, que la activación de la vía PKG requería de la actividad de efectores de niveles superiores de la cascada de señalización como es la fosfolipasa C, el  $Ca^{2+}$  y la AC. Además, la investigación de otras proteínas implicadas en la cascada de señalización PKG condujo a la identificación de la proteína cinasa activada por mitógenos p38 (MAPK) que regula la actividad intrínseca de SERT. Los cambios en SERT por la activación de p38 MAPK (mediada por PKG) ocurren independientemente de los cambios causados directamente por PKG.

De modo similar, los inhibidores de la proteína fosfatasa (PP1/PP2A) producen disminución del transporte de 5-HT y aumentan significativamente la incorporación de  $^{32}P$  al transportador SERT, es decir, de nuevo la fosforilación del transportador SERT reduciría la disponibilidad del mismo y disminuiría su actividad (Baumann y col., 2000). Sin embargo, el efecto de la fosforilación de SERT sobre su modulación no parece ser tan evidente cuando la incorporación del fosfato es por la vía del AMPc. Curiosamente, el tratamiento crónico con

antidepresivos aumenta la producción de AMPc intracelular debido a un aumento del acoplamiento entre la proteína  $G_{s\alpha}$  y la AC. Este incremento del AMPc intracelular se traduciría en un aumento de la translocación y la actividad de PKA lo que sugiere un mecanismo potencial para la regulación de SERT por la PKA después de la administración prolongada de antidepresivos (White y col., 2005). Este estudio, sin embargo, entra en conflicto con numerosos estudios que han encontrado una disminución en los niveles de SERT tras la administración crónica de antidepresivos a pesar del aumento de AMPc. Horschitz y col. (2001) trataron células HEK con expresión heteróloga de SERT incrementando las concentraciones de citalopram antes de determinar los efectos del tratamiento sobre la captación de [ $^3$ H] 5-HT y la unión de [ $^3$ H]-citalopram. Después de 3 días de incubación con 500 nM de citalopram, la  $V_{max}$  se redujo a aproximadamente el 40% sin un cambio posterior en la constante de afinidad aparente (valor de  $K_m$ ) para la 5-HT. Por otra parte, estos mismos autores observaron que en estas células no se producía una disminución similar de la expresión SERT cuando eran tratadas de forma crónica con desipramina, un inhibidor de NAT. El mecanismo a través del cual el citalopram provoca la desensibilización de SERT en las células HEK y si los resultados son dependientes de la línea celular permanece poco claro. Lo que si parece cierto es que la regulación al alza o a la baja de SERT depende de la transcripción y de eventos de traslación que requieren días o incluso semanas para completar los efectos moleculares y celulares que deben alcanzarse y esto puede contribuir al desfase que existe entre el inicio de la farmacoterapia y la evidencia de una respuesta clínica.

Por último, otro aspecto que se ha estudiado es el papel de la glicosilación en la expresión del transportador. Se han descrito diversas secuencias consenso para la glicosilación en el bucle largo que se encuentra entre los dominios transmembrana 3 y 4, y aunque la glicosilación parece ser importante para a expresión normal de SERT en la membrana, no afecta a la unión del ligando ni a la translocación del sustrato (Tate y Blakely, 1994).

#### 4.5.4. Interacciones proteína-proteína

El hecho de que SERT sea un transportador cuyo tráfico intracelular esté regulado, parece indicar la posibilidad de que exista interacción entre SERT y otras proteínas que pudieran mediar este proceso. Además, SERT contiene zonas de la secuencia que participan en la interacción directa proteína-proteína, tales como leucinas repetidas en el dominio transmembrana 2, un sitio PDZ de unión en el extremo carboxil, y tirosinas que contribuyen a la internalización.

Mediante el uso de técnicas de co-inmunoprecipitación y del sistema de dobles híbridos en levaduras, se han detectado un gran número de interacciones, aunque el significado fisiológico de muchas de ellas no se conoce. Bauman y col. (2000) mostraron que la proteína fosfatasa PP2A co-inmunoprecipita con SERT, y esta interacción estaba regulada por la inhibición de la fosfatasa, la activación de PKC y el transporte de sustratos. Aunque no se conoce si PP2A se une directamente a SERT, esta asociación podría ayudar a explicar los procesos moleculares responsables de la fosforilación del transportador y su internalización.

Otra interacción que se ha descrito *in vitro* es la del extremo carboxil terminal de SERT con MARKS (cinasa reguladora de afinidad a microtúbulos o myristoylated alanine-rich C kinase substrate en inglés) (Jess y col., 2002), sin embargo, se desconoce si esta unión se produce *in vivo*. Otros resultados sugieren que la proteína syntaxina I perteneciente a la familia de proteínas SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor-attachment protein receptor) podría estar involucrada en los efectos moduladores de la PKC (Haase y col., 2001).

#### 4.6. Estudios genéticos de la actividad de SERT

La alteración genética del gen que codifica SERT, SLC6A4, utilizando ratones y la tecnología de producción de “knockouts” (SERT-KO: ratones en los que se anula la expresión del gen de SERT), ha proporcionado la oportunidad de estudiar el papel de SERT *in vivo*.

El ratón SERT-KO (no se expresa SERT), muestra una elevación extracelular de 5-HT de hasta 6 veces y una disminución marcada (60% - 80%) del contenido tisular de 5-HT en diversas regiones del cerebro (Bengel y col., 1998). Las notorias alteraciones neuroquímicas que se han observado en el ratón mutante indican que SERT es crucial en la homeostasis presináptica en dos aspectos. Primero, constituye el principal mecanismo que finaliza la neurotransmisión extrayendo la 5-HT de la hendidura sináptica y segundo, la recaptación es el principal mecanismo de restitución de los almacenes intracelulares de 5-HT. El análisis de SERT-KO, además de los cambios en la homeostasis de 5-HT, ha mostrado alteraciones en la respuesta de

los receptores post-sinápticos, que regulados a la baja como consecuencia del elevado nivel de 5-HT extracelular que se produce por la falta de funcionalidad de SERT (Fabre y col., 2000).

Junto con la transgénesis, como técnica para el estudio de la actividad de SERT, estudios recientes han mostrado que la actividad transcripcional del gen que codifica SERT está modulada por un elemento polimórfico repetitivo (5-HTTLPR) localizado con anterioridad al sitio de inicio de la transcripción (Haddley y col., 2008) y se han descrito variaciones en la región 5' no traducida (5'UTR), causadas por empalme alternativo del exón 1B y 1C, en el intrón 2 (un número variable de 16/17 pares de bases repetidas en tándem, VNTR-17), y en la región 3' no traducida (3'UTR) (Lesch, 2001). La estructura distinta de la región 5-HTTLPR da lugar a la formación de una estructura secundaria de ADN que tiene el potencial de regular la actividad transcripcional del promotor asociado al gen de SERT. Existen dos variantes alélicas de la región 5-HTTLPR, la variante corta (s) y la variante larga (l) que modulan de modo distinto la actividad transcripcional del promotor del gen de SERT (Collier y col., 1996). Estos polimorfismos consisten en un tándem multialélico de 17 pb repetidas y la inserción/supresión de una secuencia de 22 pb que da lugar al alelo largo (l), que contiene 16 copias de esas 22 pb, o al alelo corto (s) que contiene 14 copias de estas 22 pb. Los estudios del efecto de la longitud de 5-HTTLPR sobre la transcripción y captación de 5-HT mediada por SERT han demostrado que la variante "l" en situación de homocigosis produce concentraciones más elevadas de ARNm de SERT, mayor capacidad de unir ligandos inhibidores y una captación de 5-HT de más del doble que en situación de homocigosis de la variante "s" (Lesch y Gutknecht, 2005).

Son muchos los trabajos que muestran asociación entre las variaciones alélicas de 5-HTTLPR y la expresión de SERT y la implicación en las alteraciones de la conducta como la ansiedad, depresión y agresividad y en diversas enfermedades psiquiátricas (Murphy y col., 2003). Asimismo, el polimorfismo de la región promotora de SERT se ha demostrado que modula la influencia del estrés sobre la respuesta depresiva (Caspi y col., 2003).

#### **4.7. Patologías en las que existe alteración de la actividad serotoninérgica: el papel de SERT**

La implicación de la alteración del sistema serotoninérgico en procesos patológicos ha sido fundamentalmente descrita, como ya se ha comentado anteriormente, para dos tipos de patologías: las asociadas a alteraciones de la conducta en el SNC y las enfermedades inflamatorias crónicas en el tracto intestinal.

En relación con la presente tesis vamos a centrar nuestra atención en las alteraciones relacionadas con la conducta y las implicaciones serotoninérgicas.

Diversos estudios neurobiológicos y neuroanatómicos indican la importancia de los cambios en el sistema noradrenérgico y serotoninérgico en las patologías asociadas a trastornos de la conducta (Purselle y Nemeroff, 2003; Tiihonen y col., 1997; Malison y col., 1998).

El papel del sistema serotoninérgico viene determinado por el nivel disponible de 5-HT, lo cual está en parte modulado por SERT, y la expresión de los receptores especialmente a nivel postsináptico. Se ha descrito que el número de sitios de recaptación de 5-HT presinápticos (SERT) se encuentra disminuido y que la expresión de receptores postsinápticos está aumentada en pacientes con depresión, sin embargo, en otros estudios se han obtenido resultados contradictorios (Nye y col., 1995). Asimismo, se han descrito niveles reducidos de 5-HT y una disminución en la recaptación de 5-HT y en los niveles de SERT en plaquetas de pacientes con depresión (Quintana, 1992). La densidad de SERT en corteza prefrontal de víctimas de suicidio y en la corteza occipital e hipocampo de pacientes con depresión fue menor que en individuos normales (Stanley y col., 1982; Perry y col., 2002), aunque, también existen contradicciones (Gross-Isseroff y col., 1998).

En lo que se refiere a la densidad de receptores, los receptores 5-HT<sub>2</sub> presentan una densidad más alta en la corteza prefrontal, hipocampo y plaquetas de pacientes con depresión y víctimas de suicidio respecto a los individuos normales (Arora y Meltzer, 1989) y la densidad de receptores 5-HT<sub>1A</sub> parece ser más alta en la corteza prefrontal en depresión (Matsubara y col., 1991).

Las variaciones que presenta el sistema serotoninérgico en estas patologías relacionadas con trastornos de la conducta han conducido a la teoría serotoninérgica que defiende que en los pacientes con depresión hay una disminución generalizada de la actividad serotoninérgica (Feldman y col., 1997). Además, el hecho de que el tratamiento antidepressivo con ISRS sea efectivo, avala esta teoría. No obstante, y a pesar de que estos fármacos inhiben inmediatamente la recaptación de 5-HT, el efecto no se observa a corto plazo, sino que requiere un tratamiento repetitivo y largo en el tiempo.

El papel de la 5-HT en las patologías asociadas a trastornos de la conducta parece evidente pero no es el único factor que contribuye a ellas. De hecho se ha descrito que la depresión no es exclusivamente de origen neuroquímico, sino que está asociada a dificultades en las vías de señalización que regulan la neuroplasticidad y la supervivencia celular. En este sentido, se ha postulado que en situación de estrés y de depresión se encuentran disminuida la plasticidad celular neuronal, en parte debido a la reducción en los niveles de BDNF que promueven la supervivencia celular. Así, la administración crónica de antidepressivos actuaría por esta vía aumentando la expresión de BDNF en el cerebro (Manji y col., 2001).



#### **4.8. Regulación farmacológica del transportador SERT**

La mayor parte del conocimiento sobre los sistemas de recaptación de neurotransmisores se ha obtenido mediante la medida de neurotransmisores marcados radiactivamente en cortes histológicos o en sinaptosomas de cerebro. Además, la clonación de los transportadores y la posibilidad de expresarlos en células no neuronales está permitiendo un mayor conocimiento del mecanismo de acción de los diferentes transportadores, así como la posibilidad de encontrar nuevos fármacos selectivos que afecten a su actividad.

El descubrimiento de la implicación de la 5-HT en patologías del SNC, así como, el hecho de que estas patologías muestren una incidencia creciente en el mundo occidental, ha acentuado enormemente el interés por el desarrollo de sistemas farmacológicos que actúen sobre el sistema de recaptación de 5-HT mediados por SERT. Este transportador se ha convertido en la principal diana farmacológica, como es el caso de los ISRS, para el tratamiento de la depresión. (Lesch, 2001; Gareri y col., 2000). Actualmente los ISRS son los antidepresivos más utilizados en el mundo occidental. Una ventaja que presentan estas sustancias es que, además de tener efectos antidepresivos, son eficaces en trastornos centrales como en las crisis de pánico, en las alteraciones compulsivo-obsesivas y la bulimia. Además, los ISRS han supuesto un gran avance y han revolucionado el tratamiento de la depresión ya que, al igual que los inhibidores de la MAO incrementan la disponibilidad de 5-HT, pero son fármacos más seguros y mejor tolerados, carecen de toxicidad cardíaca y de efectos secundarios colinérgicos. Todos estos efectos se atribuyen al perfil farmacológico de estos compuestos cuyo mecanismo de acción consiste en causar una potente desinhibición de la neurotransmisión serotoninérgica, presumiblemente en todas las vías serotoninérgicas a nivel central y periférico.

Por último, es necesario indicar que los transportadores de DAT, NAT y SERT, no sólo son dianas importantes para agentes terapéuticos, incluyendo los antidepresivos, sino que también son susceptibles de resultar afectados por psicoestimulantes y neurotoxinas.

SERT es una diana de alta afinidad para los ATC como la imipramina, para ISRS como la fluoxetina y para estimulantes no selectivos como la cocaína y las anfetaminas (Reith, 1997; Barker y cols., 1994).

## 5. Reelina y Depresión

La gran mayoría de la investigación básica sobre la depresión se ha centrado en la supuesta relación entre la exposición a eventos estresantes de la vida y la aparición de síntomas depresivos. La asociación entre ambos factores surge a partir de evidencias correlacionales como son la interrupción en la ritmicidad del cortisol y la presencia de hipercortisolemia y el aumento en los niveles de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el líquido cefalorraquídeo y en los niveles de ARNm de CRH observados en pacientes deprimidos (Burke y col., 2005; Belmaker y Agam, 2008). Además, estos pacientes a menudo responden positivamente a los fármacos antidepresivos que actúan sobre el sistema neuroendocrino regulando la secreción de cortisol y experimentan con frecuencia acontecimientos vitales traumáticos o estresantes antes de la aparición de la depresión (Lussier y col., 2009).

Asimismo, la depresión posee un componente genético importante, con estimaciones de heredabilidad entre el 33% y el 50% (Fava y Kendler, 2000; Levinson, 2006), de modo que, como ocurre en la esquizofrenia y en el trastorno bipolar, la vulnerabilidad a la depresión vendrá determinada por dos factores: las alteraciones genéticas en el desarrollo temprano y los acontecimientos posteriores del medio ambiente (Maynard y col., 2004). Por esta razón los síntomas depresivos no se limitan únicamente a los trastornos depresivos sino que en son un componente clave del trastorno bipolar y de la esquizofrenia, y de otras enfermedades médicas como es la enfermedad cardiovascular (Häfner y col., 2005).

Uno de los factores de vulnerabilidad biológica descritos en relación con la depresión es la disminución de los niveles de *reelina*. Esta proteína es responsable de la plasticidad del cerebro ya que regula la migración de las neuronas y las conexiones entre ellas, es muy abundante en el tejido cerebral y se ha descrito una disminución de sus niveles en diversos trastornos psiquiátricos (Impagnatiello y col., 1998; Guidotti y col., 2000; Eastwood y Harrison, 2003). Las alteraciones en las propiedades funcionales de la reelina son similares en trastornos como la esquizofrenia, el trastorno bipolar, el autismo y la depresión, lo que llevó a plantearse la posible implicación de la reelina en la patogénesis de estos trastornos.

Se han realizado numerosos trabajos respecto a la implicación de la reelina en la depresión. Mediante el estudio de muestras cerebrales post mortem de pacientes con esquizofrenia y trastorno bipolar se ha demostrado que la expresión de reelina se encuentra significativamente disminuida (Impagnatiello y col., 1998; Guidotti y col., 2000). También, utilizando pruebas

inmunocitoquímicas se ha observado la misma reducción de reelina en cerebros de pacientes con esquizofrenia, autismo, trastorno bipolar y depresión mayor (Fatemi y col., 2000; 2001b; 2005a).

Más concretamente, Fatemi y col. (2005b) han demostrado una reducción significativa en la expresión de reelina, y en las proteínas GAD65 y GAD67, en el cerebelo de pacientes con esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión mayor. En pacientes con esquizofrenia observaron una tendencia a la disminución del ARNm de reelina cerebelar que, además, correlacionaba negativamente con los niveles de semaforina 3A, un factor que actúa como señal inhibitoria durante la sinaptogénesis. De este modo, los autores llegaron a la conclusión de que los cambios recíprocos en la reelina y la semaforina 3A pueden ser indicativos de un mecanismo que afecta al equilibrio entre los factores inhibidores y tróficos que regulan la sinaptogénesis, y que además coincide con el supuesto origen neurológico precoz de la esquizofrenia.

Por su parte, Knable y col. (2004) confirmaron de nuevo la reducción de la expresión de reelina en presencia de enfermedades psiquiátricas graves cuando analizaron las alteraciones moleculares del hipocampo en esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión mayor y observaron una reducción de la expresión de reelina en las interneuronas en los tres trastornos.

Por último, el reciente descubrimiento de la localización de reelina en diversos lugares como en la médula espinal, la capa granular subpial de la corteza fetal humana, en el estriado de rata en desarrollo, en las células hepáticas estrelladas, en el carcinoma de esófago humano, en los odontoblastos humanos y de ratón, y en las células del plasma sanguíneo, indican que sería necesario ampliar el papel potencial de esta proteína por su importancia tanto en la salud como en la enfermedad.

Los niveles sanguíneos de reelina y sus isoformas están alterados en esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión mayor, en muestras sanguíneas de pacientes psiquiátricos y sujetos control se han encontrado niveles de reelina específicos que indicaban variaciones significativas entre ambos grupos. Estos hallazgos sugieren que en sangre los niveles de reelina y sus isoformas se pueden utilizar como posibles marcadores periféricos para diagnosticar la presencia de varios trastornos psiquiátricos y que, también, pueden servir como dianas para futuras intervenciones terapéuticas (Fatemi y col., 2001a).

## **5.1. La reelina**

La reelina es una de las proteínas fundamentales del cerebro implicadas en el crecimiento y desarrollo temprano del SNC de los mamíferos, ayudando a guiar el desarrollo del cerebro de una manera ordenada. Los cambios en el nivel de esta proteína, de sus receptores o de las proteínas que participan en la vía de la reelina pueden causar una alteración en el proceso natural

de la corticogénesis. Además, la reelina tiene un papel crítico como mediador químico en las interacciones entre la glía radial, las neuronas y la matriz extracelular durante el proceso migratorio.

El gen reelina fue identificado a partir de una cepa de ratones denominada *reeler*, descubierta en 1948 por presentar alteraciones en la locomoción, aparecidas de forma espontánea en un grupo de ratones del Instituto de Genética Animal en Edimburgo, Escocia. La mutación *reeler* es autosómica recesiva, y debe su nombre a la característica marcha tambaleante que aparece en los individuos a partir de las dos semanas postnatales, acompañado de ataxia, temblores y dificultad en mantener el equilibrio. Estas alteraciones neurológicas se asocian a nivel anatómico con una severa hipoplasia del cerebelo, y a nivel histológico con anomalías en el posicionamiento de células que afectan severamente a estructuras laminadas como la corteza cerebral, el cerebelo y el hipocampo, aunque también se han identificado anomalías menos drásticas en otras regiones del cerebro como los núcleos facial, trigémino y en la oliva inferior. El cerebelo homocigoto es hipoplásico y posee un número reducido de células de Purkinje, las mutaciones que afectan a los receptores ApoER2, VLDL-R y al receptor de integrina  $\alpha_3\beta_1$  dan lugar a un resultado defectuoso en la laminación cortical y a una migración neuronal anormal y la carencia tanto de reelina como de cualquier receptor VLDL-R o ApoER2 provoca una hiperfosforilación de los receptores de la proteína Tau, que resulta en la desregulación de la función de los microtúbulos neuronales (D'Arcangelo y Curran, 1998; D'Arcangelo, 2006; Tissir y Goffinet, 2003).

La reelina está presente en todos los vertebrados, conservada evolutivamente. En el cerebro de lampreas adultas se ha observado una amplia distribución de reelina que demuestra que esta proteína posee diferentes funciones no relacionadas con el propio desarrollo del SNC en los vertebrados. En los mamíferos, incluidos roedores, la producción de reelina comienza muy temprano, expresándose por primera vez entorno al décimo día embrionario en zonas de diferenciación de telencéfalo, diencéfalo y rombencéfalo (D'Arcangelo, 2006).

El gen de la reelina (RELN) fue identificado en ratón con una secuencia de codificación (ADN) que se rompe en dos cepas distintas de mutantes *reeler*. Desde su identificación, se han encontrado numerosas variaciones alélicas adicionales, tanto en ratón como en rata, y todas las mutaciones llevan a la pérdida de la función en el gen (D'Arcangelo, 2006). Poco después, el gen RELN fue aislado y secuenciado en humanos. El gen se localiza en el cromosoma 7 y codifica una gran proteína, la reelina, que posee una masa molecular relativa 388 kDa. Esta proteína, contiene 3.461 aminoácidos y es idéntica a la de ratón en un 94%, lo que sugiere una función conservada. Posee actividad serina que presenta una secuencia señal en su extremo N-terminal,

seguida de una pequeña región homóloga a F-Espondina, una proteína secretada por células de la placa del suelo del tubo neural en desarrollo. En su extremo C-terminal hay una secuencia de aminoácidos cargados positivamente, y en la estructura central se distinguen ocho repeticiones, cada una de ellas con un dominio EGF (Factor de crecimiento epidérmico) rico en cisternas flanqueado por dos subdominios llamados A y B. La proteína reelina es secretada al medio extracelular a través de una vía constitutiva y contiene, además, dos lugares principales de proteolización por acción de metaloproteinasas que dan lugar, una vez secretada, a tres fragmentos mayoritarios: un fragmento N-terminal de 180 kDa, un fragmento central de 120 kDa, y un fragmento C-terminal de 100 kDa. El fragmento central es suficiente para la función de la reelina (concretamente las repeticiones 3-6 son suficientes para unir ApoER2 y VLDLR, y para inducir la fosforilación de Dab-1), pero la proteína completa es más activa, posiblemente porque el fragmento N-terminal contiene un epítipo reconocido por el anticuerpo CR-50 que produce la agregación de moléculas de reelina, lo que a su vez facilita la agrupación del receptor y genera una señal intracelular más intensa. De hecho el anticuerpo CR-50 inhibe la unión de reelina sus receptores, así como la agregación de la proteína (Tissir y Goffinet, 2003; D'Arcangelo, 2006).

ApoER2 y VLDLR son proteínas transmembrana que unen reelina y transducen su señal. Ambos receptores poseen una estructura parecida: la región de unión a reelina está formada por 7-8 repeticiones leucina-alanina ricas en cisteína, cada una con tres uniones disulfuro y un ión de  $Ca^{2+}$  de coordinación, seguidas de dos repeticiones EGF, un segmento tipo hélice- $\beta$ , otra repetición EGF y una región de glicosilación cercana a la membrana plasmática; tras el dominio transmembrana, el dominio intracelular contiene una secuencia aspargina-prolina-cualquier aminoácido-tirosina (NPxY), punto de interacción con dominios de unión a fosfotirosina (PTB) presentes en proteínas citosólicas como Dab-1. Sin embargo, y a diferencia de la mayoría de proteínas con dominios PTB, Dab-1 une con gran afinidad secuencias NPxY sin fosforilar (Tissir y Goffinet, 2003). La región intracelular de ApoER2 está sujeta a splicing alternativo del exón 19 que genera moléculas de receptor con y sin un dominio con capacidad de unión a proteínas adaptadoras como Psd95y Jip (D'Arcangelo, 2005); se ha demostrado 19 de ApoER2 está implicado en la función de reelina en aprendizaje y memoria durante la edad adulta (Beffert y col., 2005). Dab-1 es una proteína citosólica que funciona como adaptadora. En su región N-terminal contiene dos regiones que le permiten la interacción con otro tipo de proteínas: el dominio PTB, a través del cual une, entre otras, ApoER2 y VLDLR (Tissir y Goffinet, 2003), anclándose a su secuencia intracelular NPxY, y una secuencia rica en tirosinas, que tras ser fosforiladas por la unión de reelina a sus receptores ApoER2 y VLDLR, pueden interactuar

con el dominio SH2 de proteínas como las cinasas de la familia Src Fyn, Src o Yes (Arnaud y col., 2003). Las acciones mediadas por la región N-terminal de Dab-1 (unión a receptores de reelina y fosforilación de Dab-1 en tirosinas) son necesarias e imprescindibles para la función de reelina y, sin embargo, la región C-terminal, de función aún desconocida, parece ser necesaria *in vivo* para la eficiente señalización inducida por reelina al menos en algunas neuronas (Herrich y Cooper, 2002).

La unión de reelina a ApoER2 y VLDLR produce la agregación de los receptores y la fosforilación de Dab-1 por parte de cinasas de la familia Src. Además de la fosforilación de Dab-1, la unión de reelina a sus receptores induce la disminución del nivel de proteína Dab-1. Una vez fosforilado, Dab-1 interacciona con distintas proteínas intracelulares, entre ellas Lis1, cuya función es particularmente importante en el desarrollo cortical: mutaciones en el gen *Lis1* causa en humanos lisencefalia (D'Arcángelo, 2006). Asimismo, la Dab-1 fosforilada puede servir de sustrato para varias cinasas, que conducen a una serie de eventos importantes, tales como la plasticidad sináptica y la plasticidad de las espinas dendríticas, la neurotransmisión y la inhibición de la glucógeno sintasa cinasa-3 (GSK-3), lo que lleva a la modulación de las vías de supervivencia celular y crecimiento. Además, la Dab-1 fosforilada es un sustrato para la degradación poliubiquitina-dependiente, lo que lleva a la degradación de una subpoblación de moléculas Dab-1, a través de la vía proteosoma, pudiendo ser un factor importante en el perfeccionamiento de la señal y la reelina responde a ella en el SNC.

La reelina desempeña distintas funciones en el cerebro. Durante el desarrollo, la reelina está implicada en la migración celular, y su deficiencia *in vivo* causa severas alteraciones histológicas en la mayoría de las regiones donde se expresa. También, se detecta la reelina en el periodo postnatal y adulto, y datos *in vitro* indican que la reelina estimula el crecimiento y maduración dendrítica. Además, la reelina interviene en la sinaptogénesis y función sináptica.

Por otro lado, la reelina y las proteínas que median su señal se han relacionado con diversas enfermedades humanas. La mutación del gen RELN es causa de lisencefalia, mutaciones en el gen *Lis1* dan lugar a una enfermedad autosómica dominante también caracterizada por lisencefalia, y a estas enfermedades también hay que unir las implicaciones que la reelina tiene en los trastornos psiquiátricos como ya avanzamos en la pequeña introducción a la reelina y depresión (D'Arcangelo, 2006).

## **5.2. El ratón heterocigoto reeler y la depresión**

Como señalamos en el apartado anterior el gen de la reelina fue identificado inicialmente en ratón y la proteína que codifica es idéntica a la proteína reelina en humanos. Por esta razón, el ratón mutante reeler ha sido estudiado ampliamente como modelo para comprender los mecanismos moleculares y celulares que regulan el desarrollo de la estructura cortical.

En el mutante reeler, se observan anomalías en la organización laminar del sistema nervioso central. Las distintas clases neuronales no respetan el mecanismo de migración radial. Así, las neuronas más jóvenes que se dividen residen en las capas más profundas, bajo las neuronas generadas tempranamente. La migración de las neuronas en el ratón reeler comienza hacia arriba a lo largo de las fibras radiales pero, una vez en la corteza, las neuronas no pueden extender sus prolongaciones al encontrarse con altas concentraciones de reelina que induce el desprendimiento de sus fibras radiales y detiene su migración. Las neuronas pierden su orientación y tienen un desarrollo pobre de sus dendritas debido a la ausencia de reelina (D'Arcangelo, 2006). Además, tienen lugar cambios en la densidad y distribución de las sinapsis en el cerebelo, hipocampo y corteza piriforme, lo que sugiere que los defectos genéticos en el ratón reeler afectan a las interacciones entre las neuronas emigrantes y sus guías gliales y entre las neuronas destinadas a capas específicas de la corteza.

Han aparecido más mutantes, que a pesar de no mostrar ninguna alteración en la proteína reelina, muestran fenotipos semejantes al mutante reeler, que se explicarían por mutaciones genéticas en proteínas reguladoras esenciales de la vía de la reelina, por ejemplo mutaciones en el gen VLDL y ApoER2.

Debido a que se trata de una mutación autosómica recesiva, los mutantes salvajes homocigotos reeler ( $Reln^{-/-}$ ) no muestran niveles detectables de reelina, mientras que los ratones reeler heterocigotos haploinsuficientes ( $Reln^{+/-}$ ) expresan la mitad de reelina que sus compañeros salvajes ( $Reln^{+/+}$ ). Sin embargo, y a pesar de sus anomalías en el gen RELN, los mutantes heterocigotos no muestran un fenotipo reeler exactamente, posee una cantidad de reelina suficiente como para poseer un fenotipo casi normal. La organización laminar en su cerebro es normal, con alteraciones más sutiles como la disminución de la densidad de espinas dendríticas en la corteza frontal, la hipoplasticidad del neuropilo, la disminución de la expresión del enzima GAD67 y la disminución del GABA (Costa y col., 2002), déficits sutiles en la inhibición prepulso, deficiencias en algunas medidas de cognición y en la función ejecutiva (Brigman y col., 2006). Sin embargo, estos individuos heterocigotos no muestran alteraciones

neuroanatómicas y neuroquímicas en las regiones cerebrales que han sido implicadas en la depresión (hipocampo, corteza y corteza prefrontal) (Tueting y col., 2006), lo que puede hacerlos más vulnerables a los efectos nocivos del estrés o de los glucocorticoides que a los individuos salvajes. De este modo, el mutante heterocigoto reeler se ha propuesto como un buen modelo para estudiar si la pérdida de reelina podría ser un factor de vulnerabilidad para la depresión (Lussier y col., 2011).

### 5.3. Mecanismo de acción de reelina durante el desarrollo cerebral

Las células que sintetizan reelina son las células de Cajal-Retzius, durante el desarrollo la reelina se expresa en estas neuronas situadas en la zona marginal de la neocorteza e hipocampo, y en las células granulares postmitóticas de la EGL (lamina granular externa) del cerebelo. El ratón reeler presenta alteraciones en la organización laminar de estas tres regiones: en la neocorteza, las células corticales no escinde la preplaca y se acumulan por debajo de las células de la subplaca sin formar capas; en el hipocampo, las células piramidales del hipocampo y las células del giro dentado se distribuyen laxamente, sin formar capas compactas con límites definidos; y en el cerebelo, las células de Purkinje tienden a acumularse en regiones subcorticales, mientras que en número tanto las células de Purkinje y granulares están muy disminuidas. En la neocorteza se ha sugerido que la reelina regula el desarrollo de la placa cortical funcionando como una señal de detención para las células que migran radialmente, ya que se expresa principalmente en la capa más superficial y porque *in vitro*, la reelina detiene la migración neuronal e induce que las neuronas se despeguen de la glía radial (D'Arcangelo, 2006). Sin embargo hay varias evidencias que contradicen esta hipótesis:

- en el ratón reeler, las células no llegan hasta la zona marginal., sino que, se acumulan a niveles profundos de la neocorteza.

- en el ratón salvaje existe expresión de reelina en capas profundas de la neocorteza (futuras capas V-VI ) en etapas tardías del desarrollo embrionario y durante el desarrollo posnatal, cuando todavía hay células destinadas a capas superiores (II-III) en activa migración

- la expresión ectópica de reelina, bajo el promotor de *Nestina* en la zona ventricular del ratón reeler, restituye parcialmente el fenotipo normal, a nivel histológico y funcional, sin detener la migración de células corticales en la región ventricular (Magdaleno y col., 2002).

D'Arcangelo propone la existencia de un gradiente extracelular de reelina en la neocorteza durante el desarrollo, que podría afectar de forma diferencial a las células en migración según su concentración; a bajos niveles la reelina favorecería la extensión del proceso y en consecuencia



la migración neuronal en dirección a la superficie pial; a niveles altos, presentes únicamente en la zona marginal, la reelina podría producir la no adhesión de la fibra de glía radial, induciendo así la detención de las células en migración (D'Arcangelo, 2006).

#### **5.4. La reelina en el cerebro adulto**

La expresión de reelina en la corteza persiste mucho después de que la corticógenesis se completa y de que la mayoría de las células Cajal-Retzius han desaparecido. En el cerebro de mamíferos adultos, la reelina se localiza en algunas células Cajal-Retzius persistentes de la capa I cortical, en las interneuronas GABAérgicas de las capas II-IV corticales, en las células granulares del cerebelo y en las del interneuronas del hipocampo. La presencia de células reelina-positivas en el hipocampo adulto indica que la función de la reelina no se limita al período embrionario, sino que puede continuar durante la vida adulta (Fatemi y col., 2000). Aunque algo controvertido, un estudio reciente demuestra la coexpresión de reelina y DAb-1 en células de Cajal-Retzius durante el desarrollo cortical, y en las células piramidales corticales en el SNC adulto, modulando la plasticidad sináptica y mejorando la inducción y mantenimiento de la potenciación a largo plazo. Por otra parte, la reelina es reemplazada en gran medida por la expresión de reelina de interneuronas GABAérgicas que se dispersan a lo largo del neocórtex e hipocampo en los mamíferos. Los receptores ApoER2, VLDLR y  $\alpha 3\beta 1$ , esenciales para el sistema de señalización reelina, continuarán produciendo cambios en las proteínas relacionadas con el citoesqueleto como Dab-1 y activando proteínas cinasas no receptoras, en el cerebro adulto. Además, la reelina también se mantiene en contacto con receptores integrina regulando al alza la traslación de ARNm específicos en las espinas dendríticas y aumentando el número de agrupamientos de partículas intramembrana (proteínas transmembrana) en dominios de membrana postsinápticos.

La reelina, también se expresa en regiones del cerebro donde la plasticidad adulta se lleva a cabo, como el bulbo olfatorio y el giro dentado, sugiriendo que la reelina regula directamente la sinaptogénesis. Por último, se ha demostrado que la reelina promueve el aprendizaje asociativo, y que esta función está mediada por una isoforma del receptor ApoER2 que es capaz de interactuar con el receptor NMDA de glutamato. Estos datos plantean la posibilidad de que la reelina module la función sináptica en el cerebro tras el parto, y tenga implicaciones en enfermedades como la esquizofrenia, en la que se han observado bajos niveles de expresión de reelina.

### **5.5. La reelina en el plasma sanguíneo**

La reelina también se expresa en el plasma sanguíneo (Smalheiser y col., 2000) donde la alteración en los niveles de reelina es generalizada en enfermos con esquizofrenia, trastornos del estado de ánimo y autismo (Fatemi y col., 2002; Fatemi y col., 2001b). Sin embargo, mientras que el papel de la reelina ha sido ampliamente estudiado en el cerebro, no existe mucho conocimiento sobre las posibles acciones de la reelina en el plasma sanguíneo, a pesar de que se sabe que la reelina en plasma es secretada mayoritariamente por los hepatocitos y procesada por el activador plasminógeno y la enzima proteasa plasmita (Lugli y col., 2003).

Recientemente, se ha demostrado la presencia de reelina en plaquetas y la importancia que la interacción entre reelina y plaquetas tiene en la señalización y las funciones plaquetarias. Así, Cheng y Tseng (2010), han observado que la reelina extracelular puede interactuar con plaquetas a través del receptor ApoER2. Y, en linfocitos sanguíneos, también se han detectado variaciones en los niveles de ARNm del receptor VLDLR, pudiendo ser útil como posible marcador biológico de la enfermedad.

Asimismo, se ha sugerido que los niveles de ARNm de los receptores VLDLR y ApoER2 en linfocitos periféricos pueden reflejar los niveles de ARNm del SNC. Para ello, Sullivan y col. (2006) se apoyan en que los niveles de expresión de varios genes relevantes biológicamente son estadísticamente similares en sangre y en el cerebro. Primero, por que a nivel del transcriptoma la sangre total comparte importantes similitudes de expresión génica con múltiples tejidos del SNC; segundo, la correlación media entre las transcripciones presentes tanto en sangre total como en el SNC es de 0,5 aproximadamente; tercero, cerca de la mitad de un amplio conjunto de genes candidatos relacionados con la esquizofrenia, se expresan en sangre total y en la corteza prefrontal; y cuarto, los niveles de expresión de muchos procesos biológicos relevantes son similares entre sangre total y la corteza prefrontal.

## 6. Biomarcadores de depresión

Como hemos descrito en el apartado dedicado al tratamiento de la depresión, el retraso en la acción de los antidepresivos y el porcentaje de pacientes no respondedores ha dado lugar a un creciente interés en el desarrollo de biomarcadores de eficacia terapéutica en depresión, junto al estudio de otros posibles biomarcadores de predisposición, diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Existen diversos biomarcadores genéticos, moleculares y bioquímicos de la depresión aprobados en la actualidad, entre ellos los más validados repetidamente han sido la disminución del SERT en plaquetas y linfocitos, la hipercortisolemia, la hipocolesteremia, la disminución del BDNF, la disminución de la fosforilación de la proteína CREB y el aumento de interleucina 6 (Rivera-Baltanás y Caruncho , 2010).

### 6.1. Definición y uso

Los biomarcadores representan características del organismo que pueden medirse y evaluarse de forma objetiva, obteniendo información sobre procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas a un tratamiento (Biomarkers Definitions Working Group, 2001).

El interés en la búsqueda de marcadores biológicos de la depresión ha crecido mucho en las últimas décadas. En un primer momento, el estudio de las características biológicas en los trastornos mentales se centraba en el nivel de concentración de neurotransmisores y sus metabolitos o precursores. Más tarde, la atención se desplazó a los sistemas receptores. Finalmente, desde los años noventa, el interés se centra en los procesos intracelulares y los cambios relacionados con el curso de la enfermedad y el tratamiento psicofarmacológico. El conjunto de biomarcadores indicadores de trastornos mentales y de predicción de respuestas terapéuticas se centra en las características celulares, neuroquímicas, neuroendocrinas, genéticas y neuroinmunológicas, que en algunos casos pueden medirse en sangre periférica (Fisar y Raboch, 2008).

Existen tres grandes vías de aproximación a la búsqueda de biomarcadores de las enfermedades mentales:

- *Genómica*. El genotipado de gran cantidad de polimorfismos en la población permite un avance en el estudio de la vulnerabilidad genética asociada a las enfermedades. El uso de endofenotipos (característica fácilmente medible a nivel molecular o de comportamiento, que

puede relacionarse con diferentes tipos de un trastorno, como los subtipos de esquizofrenia) puede facilitar el descubrimiento de la influencia de factores genéticos en la fisiopatología de los trastornos mentales y, por tanto, sugerir nuevas estrategias de intervención-prevención (Cannon y Keller, 2006). Sin embargo, los estudios genómicos *per se* no parecen ser suficientes para mejorar notablemente el diagnóstico y las opciones terapéuticas en los trastornos mentales. Debido al ‘corte y empalme’ alternativo y a las modificaciones post-traduccionales, un solo gen puede codificar para varios productos de expresión. Por tanto, es necesario también conocer los productos de la expresión génica (proteínas) y las redes complejas de interacción entre éstas.

- *Proteómica*. Consiste en el estudio y comparación de todas las proteínas producidas por la célula. Utiliza espectrometría de masas de alto rendimiento para la identificación de proteínas que puede revelar los niveles de expresión de éstas, su modificación postraducciona l y las interacciones proteicas. Las herramientas proteómicas tienen la posibilidad de determinar de forma cuantitativa y cualitativa proteínas en los patrones de tejido cerebral *post mortem*, líquido cefalorraquídeo o suero. Al comparar los perfiles de proteína sanas en los estados sanos y la enfermedad celular.

- *Metabólica*. Consiste en el estudio de las moléculas de pequeño tamaño producidas por el metabolismo celular; normalmente se lleva a cabo en los fluidos biológicos: sangre, orina, saliva, líquido cefalorraquídeo, etc. (Hünnerkopf y col., 2007). Siguiendo estas vías de aproximación, se han validado diversos biomarcadores de la depresión que resultan de alteraciones genéticas, neuroquímicas o celulares, que se pueden utilizar en una mejor definición de los diferentes niveles de la estructura clínica de esta enfermedad (Mössner y col., 2007).

A continuación describimos algunas de las principales alteraciones que se han validado como biomarcadores de depresión.

## 6.2. Factores neurotróficos y neurogénesis

El desarrollo y mantenimiento del sistema nervioso de los vertebrados requiere del continuo funcionamiento de un número de proteínas conocidas como neurotrofinas. Se ha demostrado que en el cerebro adulto tiene lugar una proliferación y maduración de neuronas en lugares discretos, incluyendo el hipocampo y la región subventricular estriatal. La exposición a sustancias psicotrópicas o factores estresantes media en este proceso de neurogénesis adulta, regulando la expresión y función de cascadas de factores de crecimiento, lo que sugiere el posible papel de la neurogénesis en la fisiopatología de la depresión y otros trastornos del estado de ánimo (Nibuya y col., 1999; Kalueff y col., 2006).

Entre los factores neurotróficos determinantes está el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) cuyos niveles se ven reducidos en la depresión. Su papel fisiológico consiste en estimular el desarrollo y estabilización de las conexiones entre neuronas. El BDNF influye en los niveles de expresión de reelina, proteína que hemos descrito en el punto anterior, que desempeña un papel importante en los procesos de plasticidad neural en centros críticos para el aprendizaje y la memoria, como el hipocampo y la corteza, al igual que en otros componentes del sistema límbico, como la amígdala (Ringstedt y col., 1998). Además, tanto el BDNF como el glutamato están implicados en la regulación de la plasticidad sináptica, neurogénesis y supervivencia neuronal en el cerebro adulto. De hecho, ambas señales están co-reguladas: el glutamato estimula la expresión del BDNF y éste aumenta el crecimiento y supervivencia de las neuronas (Hartmann y col., 2001). Existen múltiples evidencias de la posible validez del BDNF como marcador biológico de la depresión: se observan niveles reducidos de BDNF en sangre en pacientes depresivos, una correlación negativa entre los niveles de BDNF en suero y las puntuaciones en la escala HDRS de pacientes con depresión, e incrementos en la expresión del BDNF en el giro dentado del hipocampo en sujetos tratados con antidepresivos en comparación con controles sanos (Mattson y col., 2004; Gonul y col., 2005; Karege y col., 2002; Shimizu y col., 2003).

### **6.3. CREB**

Las diferentes clases de tratamientos a largo plazo en la depresión, incluyendo ISRS e ISRN, regulan también la expresión de la proteína de unión en respuesta a AMPc (CREB, cAMP response element-binding, en inglés) De hecho, el nivel de medición de fosforilación de CREB en linfocitos T se ha relacionado con una adecuada respuesta farmacológica (Nibuya y col., 1996; Koch y col., 2002).

Las proteína cinasas PKA y PKC son fundamentales en el funcionamiento de CREB, la activación de ambas está también implicada en la disminución de CREB fosforilado en sujetos depresivos, y además, el SERT contiene sitios de fosforilación para las proteína cinasas PKC, PKA y PKG. Por último, el tratamiento crónico con antidepresivos aumenta la producción de AMPc intracelular (segundo mensajero en la cascada de CREB) debido a un aumento en la unión entre la proteína G $\alpha$  y la AC. El aumento de AMPc podría aumentar la actividad de PKA, y ésta, a su vez, reducir la actividad del SERT (Koch y col., 2002; White y col., 2005).

#### **6.4. Cortisol y colesterol**

La hipersecreción de cortisol y la falta de normalización del test de supresión con dexametasona se han estudiado ampliamente en relación con la depresión (Roy y col., 1987; Joyce y Paykel, 1989; Alonso-Fernández, 1993; Pridmore, 1999; Callagher y col., 2008). Este test constituye una de las pruebas más relevantes sobre alteraciones en la regularización del sistema HPA. El 50% de los pacientes muestra no supresión de la secreción de cortisol después de la administración de la prueba de dexametasona. La normalización de esta respuesta es un marcador que correlaciona con la eficacia del tratamiento antidepresivo. El cortisol tiene múltiples acciones, entre las que destaca el incremento de la respuesta fisiológica al estrés. En situaciones estresantes se elevan los niveles de cortisol, los cuales conducen a una cadena de fenómenos que, en última instancia, proveen de inmediata energía al organismo. Sin embargo, cuando el cortisol se secreta de forma crónica, pueden producirse secuelas fisiológicas tales como el incremento de la presión arterial y la supresión inmunológica. Se sabe que en los pacientes con depresión mayor hay un aumento general de la actividad del eje HPA. La presencia de niveles elevados de cortisol de manera permanente, a consecuencia de una respuesta de estrés sostenida, provoca un aumento sustancial en la recaptación de 5-HT, lo que reduce el nivel de 5-HT en la hendidura sináptica. Ello podría ser corregido por los fármacos antidepresivos, pero no debemos olvidar que la eficacia de éstos no se observa tras su administración aguda, lo que lleva a pensar que su actividad terapéutica no se debe solamente a la acción del fármaco sobre su diana, sino a cambios compensatorios que se producen a más largo plazo. Niveles bajos de colesterol se han asociado con suicidios y trastornos del estado de ánimo (Martínez-Carpio y col., 2008). De hecho, hay una correlación clara entre niveles bajos de colesterol y una alta puntuación en la HDRS de síntomas depresivos (Rafter, 2001). Se ha destacado la importancia que las alteraciones lipídicas pueden tener en la etiología de la depresión y se ha propuesto que una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados podría utilizarse conjuntamente con la medicación antidepresiva en el tratamiento de la depresión (Ross y col., 2004).

#### **6.5. Transportador y receptores de 5-HT**

La hipótesis monoaminérgica de la depresión postula que la depresión se origina por una deficiencia en los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico. Ensayos de unión han demostrado una importante disminución del número de DAT en la membrana de plaquetas y linfocitos, lo que se considera como uno de los biomarcadores de depresión más ampliamente demostrados

(Mössner y col., 2007). Asimismo se ha sugerido que algunos compuestos con posible acción antidepressiva, como la nicotina, pueden ejercer sus efectos terapéuticos mediante una acción indirecta sobre sistemas monoaminérgicos (Vieyra-Reyes y col., 2009). Es de interés destacar que numerosos estudios han obtenido evidencias de que podrían existir diferencias en la actividad de SERT entre la depresión unipolar y bipolar (Manji y col., 1999; Peña y col., 2005; Stockmeier, 2003). Además, la presencia del polimorfismo 5-HTTLPRs del gen que codifica para SERT en su región promotora aumenta la vulnerabilidad de sufrir, dentro de un contexto estresante, un trastorno unipolar, pero no bipolar (Ghaemi y col., 2004; Smeraldi y col., 2006). Ensayos de unión en membranas de distintas áreas cerebrales también han demostrado alteraciones diferentes en la expresión de SERT y NAT entre depresión unipolar y bipolar (Mandelli y col., 2007; Cannon y col., 2007).

Por otro lado, se han intentado relacionar las diferencias sintomatológicas entre ambos subtipos, principalmente la agitación psicomotriz y el estado de ánimo elevado, expansivo e irritable, con las bases neuroquímicas que las sustentan con el fin de poder establecer diferencias entre ambos subtipos y seleccionar el tratamiento más adecuado. Parece que en la depresión bipolar la desinhibición psicomotora está altamente ligada a la actividad catecolaminérgica, mientras que esto no se observa en la depresión unipolar.

Finalmente, dada la gran heredabilidad de los trastornos bipolares, el interés se ha centrado en encontrar aquellos genes o polimorfismos que puedan contribuir a la diferenciación unipolar/bipolar. Aunque se han descrito múltiples factores genéticos implicados, los efectos de éstos son modestos hasta el momento (Kaplan y Lester, 1994).

Polimorfismos del gen que codifica para el transportador de la 5-HT también se han asociado a una respuesta diferente al tratamiento con antidepressivos. Este gen presenta una variación común en su región promotora que da lugar a dos polimorfismos funcionales, la forma corta 's' y la larga 'l'. La forma 'l' se asocia a una mayor expresión del SERT y parece existir una asociación entre la presencia de polimorfismos 'l' y una mejor respuesta al tratamiento (Kendler y col., 2005).

El aumento de los niveles de SERT en plaquetas y linfocitos que se tiende a observar con el tratamiento antidepressivo también correlaciona con la mejora en las escalas clínicas de depresión (Murphy y col., 2003; Lima y Urbina, 2002).

Además de SERT, varios receptores serotoninérgicos muestran cambios en depresión. El receptor 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>, mientras que no se han encontrado variaciones firmes en los receptores 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> y 5HT<sub>4</sub> (Lemondé y col., 2003; Arranz y col., 1994; Pandey y col., 2003).

El receptor que actualmente está recabando más interés es el 5-HT<sub>2A</sub>, tras encontrar una fuerte asociación de este receptor con otros trastornos como la esquizofrenia y el trastorno bipolar (Pandey y col., 2003), ahora se estudian sus posibles variaciones en la depresión.

### **6.6. Vitaminas**

Otros posibles biomarcadores de prognosis en depresión pueden ser los niveles de ácido fólico y la vitamina B12. Una dieta pobre de ácido fólico podría suponer un factor de riesgo en el desarrollo de una depresión grave, ya que se han relacionado los bajos niveles de ácido fólico y la pobre respuesta a los tratamientos antidepresivos; además, existen correlaciones negativas entre la duración del episodio depresivo y los niveles de ácido fólico y vitamina B12 (Alpert y col., 2003).

### **6.7. Interleucinas**

Los marcadores inmunológicos de depresión a los cuales más se ha prestado atención son el aumento de los niveles en suero de las interleucinas 6 y 2R (Zeugmann y col., 2010).

La interleucina 6 regula el sistema HPA y su secreción es estimulada por fenómenos estresantes físicos o psicológicos (Miyahara y col., 2000). Aunque un estudio ha mostrado que su inyección intraperoneal da lugar a un aumento de los niveles cerebrales de triptófano y del metabolismo de la 5-HT (Wang y Dunn, 1999), lo que en principio no estaría de acuerdo con las hipótesis clásicas de la depresión, otros experimentos han indicado que existe una correlación inversa entre la producción de interleucina 6 y los niveles de triptófano en pacientes con depresión (Maes y col., 1993).

### **6.8. Presente y futuro de los biomarcadores de la depresión**

Como hemos visto, existen una serie de alteraciones genéticas, moleculares o bioquímicas que podrían utilizarse como marcadores biológicos de la depresión. Una revisión mucho más completa es la recientemente escrita por Mössner y col., (2007), por encargo de la Federación Mundial de Sociedades de Psiquiatría Biológica, y el libro editado por Pariante y col., (2009), en el que se refleja una aproximación a la investigación traslacional de la neurobiología de la depresión.



En todo caso, cabe preguntarse en qué medida puede ser aplicable a la práctica clínica diaria el conocimiento de los distintos biomarcadores de la depresión a los que nos hemos referido. En buena lógica, lo que se querría en la práctica clínica sería la utilización de un test biológico rápido (y de un coste asequible) que fuese de ayuda para realizar un diagnóstico mejor y una elección terapéutica adecuada, sobre todo teniendo en cuenta que el efecto antidepressivo de los fármacos de uso común en este momento no se manifiesta de manera patente hasta varias semanas después del comienzo de la medicación, y considerando la existencia de un porcentaje importante de pacientes que no responden de manera adecuada a dicho tratamiento.

En este sentido, estudios de polimorfismos genéticos que puedan asociarse a una mejor o peor respuesta a un fármaco, o a un ajuste adecuado de su dosis, serán los que posiblemente lleguen a utilizarse en primer lugar en la práctica clínica (Lin y col., 2008; Drago y col., 2009; Hortmann y Binder, 2009; Schlosser y Kasper, 2009). El hecho de que varios de los biomarcadores enumerados se muestren como alteraciones diferentes en depresión unipolar o bipolar posibilita su utilización para llegar a un diagnóstico más preciso y acertado. De hecho, el interés podría radicar no sólo en distinguir entre la depresión unipolar y bipolar, sino en poder diferenciar distintos subtipos en correlación con las sintomatologías descritas en el DSM-IV-TR. Algunas de las cuestiones generales que se planteaban en el diseño de la quinta edición incidían sobre estos temas, aunque muy probablemente tenga que esperarse a ediciones posteriores del DSM para que se reflejen en el mismo.

Los biomarcadores de vulnerabilidad o predisposición a la depresión, en realidad, representan “el número de billetes de lotería comprados, teniendo en cuenta que el premio de ésta sería el sufrir depresión mayor”. Lo que queremos indicar es que los biomarcadores de vulnerabilidad constituyen marcadores de probabilidad, pero no patognómicos, de la depresión.

Se puede entender que los mejores biomarcadores serían aquellos directamente relacionados con la etiopatogenia o, en un sentido ‘mecánico’, con la fisiopatología de la depresión. No es de extrañar, por tanto, que numerosos trabajos se centren en el estudio de alteraciones de sistemas neuronales que sean el resultado de defectos genotípicos, de expresión génica (cuantitativa o funcional), que puedan afectar a diversas redes nerviosas implicadas sobre todo en el control de lo que se conoce como cerebro emocional, principalmente el sistema límbico en general y la amígdala en particular.

Se han demostrado numerosas alteraciones genéticas, moleculares y bioquímicas que posiblemente representen un componente esencial de los mecanismos neurobiológicos de la

## *Introducción*

depresión. El reto estriba en la validación de algunas de estas alteraciones como posibles biomarcadores de la depresión y, sobre todo, en buscar una utilidad clínica de éstos.

**Justificación**  
**y**  
**Objetivos**



La depresión es una enfermedad de elevada prevalencia y etiopatogenia desconocida, una enfermedad psiquiátrica discapacitante, a menudo crónica, que afecta al individuo, a su familia y a la sociedad en su conjunto (Pincus y Pettit, 2001; Judd y col., 2002). En la práctica clínica psicopatológica la etiqueta de depresión es el diagnóstico más común, convirtiéndose en el problema principal en atención primaria con estimaciones de prevalencia entre el 5 y el 13% (Panzarino, 1998; O'Connor, 2009). Debido a su naturaleza altamente prevalente y recurrente es una de las enfermedades más costosas a nivel mundial tanto en términos de gasto sanitario como en horas laborales dedicadas en la sociedad occidental. Sin olvidar su elevada comorbilidad con otros problemas médicos, especialmente enfermedades cardiovasculares, que intensifica en gran medida la mortalidad, morbilidad y costes asociados (Gelenberg, 2010).

Es una enfermedad común pero grave, y la mayor parte de quienes la padecen necesitan tratamiento para mejorar. La terapéutica de la depresión se basa principalmente en el uso de inhibidores selectivos del transportador de serotonina, o bien, de inhibidores de los transportadores de dopamina y noradrenalina (Nestler, 2006; Mathew, 2008; Millan, 2009). Sin embargo su eficacia sólo alcanza el 60-70% de los pacientes, mientras que tan solo el 56% de los pacientes sigue cumplimiento con el tratamiento tras los tres primeros meses desde su implantación (Mathew y Charney, 2009). Si a ello unimos la complejidad para llevar a cabo el diagnóstico y establecer el tratamiento adecuado al paciente, parece claro que la clínica necesita una medida objetiva de depresión que sirva como complemento, permitiendo establecer diagnósticos tempranos de la enfermedad, ajustando el tratamiento a lo largo de su curso y desarrollando tratamientos individualizados.

En depresión mayor, los niveles de expresión de reelina muestran una tendencia a la baja aunque generalmente son más sutiles que en esquizofrenia y trastorno bipolar (Impagnatiello y col., 1998; Guidotti y col., 2000; Fatemi y col., 2001a), mientras que en modelos animales de depresión se evidencia una reducción de reelina en la capa granular del giro dentado (Lussier y col., 2009). También se conoce que la adición de reelina recombinante a muestras de sinaptosomas corticales induce la expresión de algunas proteínas (Caruncho y col., 2004), cuyo proceso depende de la unión de la reelina con integrinas presentes en membranas postsinápticas que podría resultar en alteraciones en agrupamiento de proteínas en áreas postsinápticas y presinápticas modificando determinados procesos de transducción de señales.

Dados los defectos en la expresión de reelina en depresión mayor, las posibles variaciones en el grado de agrupamiento de proteínas en determinados dominios de membrana, y que la principal diana terapéutica en depresión es el transportador de serotonina (SERT), proponemos

estudiar la distribución de los agrupamientos de SERT como posible biomarcador de depresión y sus posibles implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. Secundariamente, analizaremos el agrupamiento del receptor 5HT<sub>2A</sub> de serotonina en muestras de sangre periféricas, linfocitos, dada la importancia que en la literatura se le ha otorgado en relación con el funcionamiento del sistema serotoninérgico y sus implicaciones en los trastornos mentales, especialmente con la esquizofrenia, aunque también se han encontrado evidencias de su papel en los trastornos depresivos (Lima y Urbina, 2002; Magnani y col., 2004; Fazzino y col., 2008).

La presente Tesis se propone los siguientes objetivos:

**1. Estudiar si en modelos animales de depresión hay un defecto en el agrupamiento de SERT en determinados dominios de membrana en muestras periféricas (linfocitos). Para ello nos proponemos analizar las alteraciones observadas en el agrupamiento de SERT en linfocitos de  $Reln^{+/-}$  y  $Reln^{-/-}$  en comparación con  $Reln^{+/+}$ .**

**2. Estudiar la distribución de los agrupamientos de SERT en la membrana de linfocitos y analizar sus posibles variaciones en la población control.**

**3. Analizar en linfocitos de pacientes depresivos posibles diferencias en agrupación de SERT que se vean afectadas por la presencia de trastorno del estado de ánimo y estudiar las posibles correlaciones de sus alteraciones con datos clínicos.**

**4. Analizar en linfocitos de pacientes depresivos posibles diferencias en agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> que se vean afectadas por la presencia de trastorno del estado de ánimo y estudiar las posibles correlaciones de sus alteraciones con datos clínicos.**

**Material**

*y*

**Métodos**





## 1. Modelo animal experimental : el ratón reeler

Para realizar nuestro estudio de identificación y caracterización del agrupamiento de SERT en dominios específicos de membrana en linfocitos, hemos utilizado un modelo animal conocido como ratón mutante reeler. En concreto, hemos usado ratones homocigotos reeler ( $Reln^{-/-}$ ), ratones heterocigotos haploinsuficientes reeler ( $Reln^{+/-}$ ) y ratones de fenotipo salvaje ( $Reln^{+/+}$ ), obtenidos en nuestro laboratorio a partir de parejas reproductoras heterocigotas de la cepa B6C3Fe-a/a- $Reln^{fl/+}$  (Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, USA).

Nuestra colonia de ratones se ha mantenido en el animalario de la Facultad de Biología de la Universidad de Santiago de Compostela (USC) en condiciones de estabulación convencionales, ciclos de 12 horas de luz (8h-20h) y 12 horas de oscuridad (20h-8h), dieta estándar y agua *ad libitum*. La edad de los ratones seleccionados para el estudio era de unos 3 meses aproximadamente y el peso promedio de 30,70 g. Los ratones utilizados se seleccionaron a partir del conjunto de crías que nacieron casi al mismo tiempo.

Todos los experimentos han sido realizados siguiendo la legislación española sobre “Protección de los Animales Utilizados para Experimentos y Otros Propósitos Científicos”, de acuerdo con las normas de la Unión Europea (O.J. de E.C. L358/1 18/12/1986) y el Real Decreto del 14 de Marzo de 1988 (233/1988/BOE). Los protocolos utilizados también han recibido la aprobación del comité ético de la Universidad de Santiago de Compostela.

### 1.1. Extracción de ADN genómico para genotipar

La extracción de ADN se realizó a partir de la cola de cada ratón, obteniendo fragmentos de cola de 3-5 mm. Se procedió a la digestión de dichos fragmentos de cola con 250  $\mu$ l de tampón de lisis (**Tabla I**) que contenía 2  $\mu$ l del enzima Proteinasa K 20 mg/ml (Gibco 25530-015). Las muestras se incubaron a 55 °C en agitación durante toda la noche al baño maría. Después de la incubación, se añadió en cada tubo 1,5  $\mu$ l de ARNasa (preparada 4mg/ml) por cada 10mg de tejido, los tubos se agitaron y se introdujeron de nuevo en el baño durante 45-60 minutos más a 37°C. El ADN se extrajo dos veces, primero, con un volumen igual de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1 v/v), agitando los tubos de manera enérgica hasta conseguir un líquido homogéneo y centrifugando durante 5 minutos a 14000 x g a temperatura ambiente, y otra vez con un volumen igual de cloroformo centrifugando los tubos a 14000 x g durante 5 minutos para precipitar los fragmentos de tejido no digeridos. Se recogió la capa

## Material y Métodos

superior a un nuevo tubo y se precipitó el ADN con dos volúmenes de etanol. Se centrifugó a 14000 x g a 4° C durante 30 minutos y se descartó el etanol obteniendo el precipitado.

A continuación, se añadieron 100µl de alcohol de 70% y se centrifugó a 14000 x g a 4° C durante 15 minutos. Finalmente, se eliminó el sobrenadante y se dejó secar el sedimento de ADN durante unos minutos al aire, que se resuspendió posteriormente en agua bidestilada estéril. Las muestras se conservaron en el congelador a -20° C.

**Tabla I: Tampón de lisis para la extracción de ADN (concentraciones finales)**

Composición	Concentración final	Concentración Stock	Volumen final (100 ml)
Tris-HCl pH= 8	50 mM	1 mM	5 ml
SDS	0,5 %	1 %	50 ml
NaCl	0,1 M	5 M	2 ml
EDTA	2,5 mM	0,5 M	5 ml
Agua Bidestilada			38 ml

El ADN genómico obtenido se utilizó para el genotipado de los ratones mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) como describe previamente D'Arcangelo (1995).

Los cebadores oligonucleótidos utilizados fueron los siguientes:

**5'-TAA GTC TCT CTG CTC ACT CC-3'**  
**3'-ACA GTT ATA AAC TAA GAC TC-5'**  
**3'-TGC ATT AAT GTG CAG TGT TGT-5'**

## 1.2. Amplificación de los marcadores génicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Una vez amplificados por PCR los fragmentos génicos, estos se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa para visualizar las bandas de ADN obtenidas. El gel se compone de agarosa al 2% disuelta en tampón de electroforesis (TBE) y bromuro de etidio a una concentración de 0,5 µg/mL. El bromuro de etidio va a permitir visualizar el ADN bajo luz ultravioleta (**Tabla II**).

**Tabla II: Tampón de electroforesis (TBE) 1X**

Tris Base	240 g
Ácido acético glacial	57,1 mL
EDTA 0,5 M pH 8,0	100 mL
Agua bidestilada csp	1.000 mL
Diluir 1:50 con agua destilada estéril antes de utilizar.	

La agarosa se disolvió en tampón TBE en un matraz Erlenmeyer, calentando la mezcla hasta ebullición en un horno microondas. A continuación, la solución se dejó enfriar hasta una temperatura aproximada de 50°C y se añadieron 0,5 µg/mL de bromuro de etidio. Finalmente, el gel se vertió en el soporte del gel y se introdujo el peine formador de pocillos. Se dejó polimerizar durante unos 30 minutos y una vez polimerizado, el peine se retiró cuidadosamente y se añadió un volumen de tampón de electroforesis TBE suficiente para cubrirlo totalmente, quedando así listo para depositar las muestras en los pocillos.

Los productos de PCR (10 µl) se mezclaron con 2 µl de solución de carga (p) y se depositaron en los pocillos del gel. En todos los ensayos se depositó, en uno de los pocillos, un patrón en blanco.

La electroforesis se realizó manteniendo un voltaje constante (120 V) durante un tiempo de aproximadamente 30 min. Finalizada la electroforesis, las bandas de ADN se visualizaron en el gel utilizando un transiluminador de luz ultravioleta.

Las muestras de ADN de los ratones de fenotipo salvaje generaron una banda de 266 pb (pares de bases), mientras que las muestras de ADN de los ratones homocigotos reeler generaron una banda de 363 pb, y las muestras de ADN heterocigoto produjeron ambas bandas.

### **1.3. Obtención de linfocitos**

Los ratones fueron anestesiados mediante una inyección intraperitoneal (IP) de hidrato de coral al 15%. Las muestras sanguíneas se obtuvieron a partir de las órbitas después de la enucleación ocular y los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical. Este proceso nos permitió conseguir más de 1 ml de sangre por animal, con anticoagulante ACD (85mM de citrato sódico, 65 mM de ácido cítrico, 111mM de glucosa anhidra), en una proporción 1:6 (v/v). Las muestras de sangre se diluyeron 1:1 en NaCl al 0,9% y se centrifugaron en un gradiente de Percoll a 400 x g durante 25 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se retiró la capa de linfocitos situada en la interfase evitando extraer el Percoll situado debajo y se colocó en tubos nuevos. Los linfocitos se resuspendieron en NaCl y se centrifugaron a 200 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de repetir este proceso los linfocitos se resuspendieron en 1 ml de solución salina y fueron fijados durante 1 minuto en una solución de paraformaldehído en tampón fosfato al 1% a temperatura ambiente. Finalmente, las células fueron guardadas durante una semana a 4° C en 1ml de solución salina.

## **2. Estudio en sujetos humanos**

Este estudio se diseñó con el objetivo de analizar en muestras periféricas de sangre, concretamente en linfocitos, posibles relaciones entre la agrupación del transportador SERT y la presencia de trastornos del estado de ánimo, así como analizar las posibles correlaciones de sus alteraciones con datos clínicos. Para ello se diseñó un estudio no intervencionista, observacional, prospectivo, longitudinal y comparativo con pacientes diagnosticados con trastorno del estado de ánimo y sujetos control sanos.

Los pacientes fueron reclutados en el área sanitaria de Vigo durante el periodo comprendido entre Marzo de 2008 y Octubre de 2009. Los criterios para la inclusión de los pacientes fueron: tener más de 18 años de edad, tener un trastorno del estado de ánimo según el criterio DSM-IV-TR (APA 2000), no presentar otro trastorno psiquiátrico, patologías neurológicas, médicas o historia de traumatismo craneoencefálico, entrar en el estudio iniciando un tratamiento psicofarmacológico (siendo pacientes “naïve” al inicio) y, en las mujeres, no estar embarazada o en periodo de lactancia. Para la selección de los pacientes se contó con la colaboración del personal del Hospital Meixoeiro y del Centro de Salud de Coia de Vigo, teniendo conocimiento de las características que debían cumplir los pacientes. Del total de individuos que cumplieron las condiciones del estudio, se recogieron datos sociodemográficos y clínicos.

La severidad de los síntomas depresivos fue básicamente evaluada usando la Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) (Hamilton, 1960), con una puntuación total mínima de 16 como criterio de inclusión, y la Escala de Autoevaluación de la Anhedonia (EAA) (Olivares, Berrios y Bousoño, 2005). Durante la primera entrevista se recogieron los datos de los cuestionarios sociodemográfico y clínicos, incluyendo los datos de las escalas HDRS y EAA. A los pacientes, también, se les extrajo una muestra de sangre, previo consentimiento informado.

En la segunda entrevista, 8 semanas después de haber iniciado el tratamiento antidepresivo, se aplicaron de nuevo la EAA y la HDRS, y se realizó una nueva analítica. Todos los cuestionarios y las escalas son recogidos por la misma persona evaluadora (ciega al tratamiento farmacológico prescrito).

Por su parte, el grupo control lo formaron individuos sanos donantes cuyas muestras se procesaron en el Centro de Transfusiones de Galicia en Santiago de Compostela. El grupo estuvo compuesto tanto por hombres como por mujeres mayores de 18 años. De estos individuos se recogieron datos sociodemográficos, de hábitos tóxicos y otros antecedentes patológicos.

Ninguno de ellos presentaba trastorno del estado de ánimo ni ninguna otra enfermedad mental, y fueron excluidos aquellos individuos que consumían sustancias de abuso. Las muestras control se recogieron entre Octubre del 2008 y Mayo de 2009.

De cada individuo se obtuvo un consentimiento informado escrito.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Compostela, de acuerdo con las siguientes consideraciones éticas: El grupo de investigación se comprometió a respetar los principios de la Declaración de Helsinki, debiendo desarrollar el estudio de acuerdo con el protocolo y con procedimientos normalizados de trabajo que aseguren el cumplimiento de las normas de Buena Práctica Clínica (GCP), tal como se describe en las Normas Tripartitas Harmonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica 1996. El protocolo, el formulario de consentimiento informado propuesto, fueron revisados por un Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC)/ Comité de Ética Independiente (CEI). Cualquier modificación del protocolo, que no fueran cambios administrativos, ha sido siempre presentada como una enmienda al protocolo con la debida aprobación de dicho comité. La confidencialidad de los datos de cada paciente ha sido respetada en todo momento. Los datos originales han sido conservados en el centro de salud y sólo han tenido acceso los investigadores del estudio y la/s persona/s encargada/s de su monitorización, o en caso de inspección por parte de las Autoridades Sanitarias Españolas.

## **2.1. Datos sociodemográficos y clínicos**

Para el estudio se efectuó un control de las siguientes variables sociodemográficas: edad, sexo, estado civil, situación laboral y nivel de estudios. En el grupo de pacientes se efectuó, además, un control de las siguientes variables clínicas: diagnóstico (incluye diagnósticos en el Eje I, II, III, IV y V), patrón melancólico, información sobre presencia o ausencia fases previas, historia de conducta suicida, fases maníacas, estacionalidad, síndrome premenstrual en las mujeres, antecedentes psiquiátricos familiares (primer y segundo orden de depresión, otro tratamiento psiquiátrico y alcoholismo-tóxicos), pérdida o separación parental.

Todas estas variables fueron analizadas, para evitar posibles efectos contaminantes en el análisis de los resultados.

## **2.2. Obtención de linfocitos**

Las muestras de sangre se tomaron en el centro de salud entre las 8 y 9 a.m., para ello se utilizaron tubos BD Vacutainer® ACD-A (REF.: 36446). Se trata de tubos de extracción de

sangre especiales indicados para la separación celular específica, contienen 1,5 ml de ACD [A-citrato trisódico (22 g/l), ácido cítrico (8 g/l), y dextrosa (24,5 g/l)] como anticoagulante y tienen capacidad para 8,5 ml de sangre. A cada sujeto se le extrajeron tres tubos de sangre.

Para la separación de los distintos componentes de la sangre y la obtención de linfocitos se utilizó un método de separación por centrifugación en gradientes de Ficoll-Paque® (Pharmacia Biotech). La separación por centrifugación da lugar a una migración diferencial provocando la formación de capas de los distintos tipos celulares. En la capa más profunda se sitúan los eritrocitos que han sido agregados por el Ficoll y han sedimentado completamente, la capa superior está formada mayoritariamente por granulocitos y en la capa intermedia, debido a su baja densidad, se mantienen los linfocitos.

En primer lugar se diluyó la sangre en una proporción 1:1 en solución salina a partir de dos disoluciones **A** (*Glucosa D-anhidra* 0,1%, *CaCl<sub>2</sub>x 2H<sub>2</sub>O*  $5.0 \times 10^{-5}$  M, *MgCl<sub>2</sub>x 6H<sub>2</sub>O*  $9,8 \times 10^{-4}$  M, *Kcl*  $5,4 \times 10^{-3}$  M, *TRIS* 0,145 M) y **B** (*NaCl* 0,14 M). Para conseguir la solución final se mezclaron 9 volúmenes de solución **B** con un volumen de solución **A**. En segundo lugar, se generó el gradiente de Ficoll (4 ml de sangre sobre la capa de 3 ml de Ficoll) y las muestras se centrifugaron a 400 x g durante 25 minutos a temperatura ambiente. Finalizada la centrifugación, se retiró la capa de linfocitos y se transfirió a un tubo nuevo de centrifuga añadiendo un mínimo de 3 volúmenes de solución salina. A continuación, se resuspendieron las células y se centrifugaron de nuevo a 200 x g durante 10 minutos, este paso se repitió dos veces, y finalmente, se retiró el sobrenadante que se diluyó en 1 ml de solución salina. Los linfocitos se fijaron en paraformaldehído al 1% durante 1 minuto y, una vez fijados, se conservaron a 4°C durante una semana.

### **3. Métodos analíticos**

#### **3.1. Análisis de las proteínas mediante Western Blot**

En nuestro estudio hemos utilizado la técnica de Western Blot para detectar la proteína de interés, el transportador de serotonina SERT, en linfocitos de ratón y en linfocitos humanos, y comprobar así la especificidad del anticuerpo seleccionado para el reconocimiento de SERT.

Para ello se utilizó el sistema de western blot en minigeles (Mini-PROTEAN Tetra System de BioRad), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las soluciones y sustancias específicas también fueron adquiridas a través de esta casa comercial.

##### **3.1.1. Preparación de las muestras**

Las muestras que se han utilizado para esta determinación han sido homogenados de poblaciones linfocitarias de ratón y donantes sanos, obtenidos como se describe en el apartado de procedimiento experimental referente a la extracción linfocitaria.

##### Extracción de proteína

Los linfocitos fijados y conservados a 4°C fueron descongelados lentamente sobre hielo, (todas las manipulaciones se realizaron a 4°C, trabajando sobre hielo, para evitar la degradación proteica) y homogeneizados. Para ello se añadió el tampón de lisado TRIS/NaCl con PMSF, EDTA, DAS y un cóctel de inhibidores de proteasas (Roche), unos 200 µl por muestra (1 ml de tampón por 1 gr de muestra), sobre el tapiz de linfocitos y se resuspendió con una pipeta Pasteur hasta conseguir un homogeneizado celular. El homogeneizado se centrifugó a 400 x g durante 20 minutos a 4° C, a continuación se retiró el sobrenadante y se añadió el tampón de precipitar (50% Etanol, 25% Metanol y 25% Acetona), 6 volúmenes de tampón a cada volumen de sobrenadante, dejando las muestras a -20°C durante 24 horas. Por último, se resuspendió la proteína en tampón D y se centrifugó a 200 x g durante 10 minutos a 4°C, se eliminó el sobrenadante y de nuevo se resuspendió la proteína en tampón D.

Las soluciones necesarias para la extracción de la proteína se especifican a continuación (**Tablas III, IV y V**).



**Tabla III: Tampón de lisis**

<b>Composición</b>	<b>Concentración final</b>	<b>Concentración en stock</b>	<b>Volumen final (10ml)</b>
NaCl	150 mM	5 M	300 $\mu$ l
Tris	50 mM	1 M	500 $\mu$ l
PMSF	1 mM	100 mM	100 $\mu$ l
NP-40	1%	10%	100 $\mu$ l
DAS	0,5%	10%	500 $\mu$ l
EDTA	5 mM	5 M	10 $\mu$ l
Aprotinina	1 $\mu$ g/ml	1 mg/ml	10 $\mu$ l
Leupeptina	1 $\mu$ g/ml	1 mg/ml	10 $\mu$ l

**Tabla IV: Tampón de precipitar**

50% Etanol
25% Metanol
25% Acetona

**Tabla V: Tampón D**

<b>Composición</b>	<b>Concentración final</b>	<b>Concentración en stock</b>	<b>Volumen final (100 ml)</b>
Glicerol	20 %		20 ml
Hepes pH 7.9	20 mM	1 M	2 ml
KCl	100 mM	0,3 M	33,3 ml
EDTA	0,2 mM	0,5 M	0,04 ml
DTT	0,5 mM	1 M	50 $\mu$ l

Una vez extraída la proteína se cuantificó su concentración mediante espectrofotometría, obteniendo una concentración aproximada de 2 $\mu$ g/ $\mu$ l. Se calcularon los  $\mu$ g de proteína necesaria para cargar en cada pocillo del gel y se añadieron junto con el tampón de carga, hasta alcanzar un volumen final de 20 $\mu$ l. El homogenado se almacenó a -80°C hasta su posterior análisis por Western blot. Como control positivo se utilizó homogenado de cerebro de ratón.

Preparación de geles

Se prepararon dos tipos de geles: el gel de separación (parte inferior) y el gel concentrador (parte superior). El porcentaje de acrilamida fue del 10% dado que SERT presenta un tamaño aproximado de 76 kDa. En la **Tabla VI** se muestran las disoluciones que se añadieron, su orden y los volúmenes exactos para obtener los geles:

**Tabla VI: Gel separador y gel concentrador**

Composición	<i>GEL SEPARADOR (10%)</i>	<i>GEL CONCENTRADOR (4%)</i>
H <sub>2</sub> O mili Q	3,9 ml	3 ml
Tris 0,5 M pH 8,8	3,1 ml	---
Tris 0,5 M pH 6,8	---	1,25 ml
Acrilamida/Bis 30%	4 ml	650 µl
SDS 10%	125 µl	50 µl
TEMED	6,25 µl	5 µl
APS	188 µl	0 µl

En primer lugar se preparó el gel separador y se introdujo con una pipeta Pasteur entre los cristales encajados en el soporte de geles. Una vez alcanzada la altura deseada se añadió isopropanol en la parte superior como aislante y se dejó polimerizar durante 45 minutos. Polimerizado el gel separador, se extrajo el isopropanol y se preparó el gel concentrador, que se añadió sobre el primer gel, colocando los peines en la parte superior. Se dejó polimerizar el gel durante unos 20 minutos a temperatura ambiente hasta que polimerizó totalmente y se retiraron los peines, quedando visibles los pocillos de carga. A continuación, se introdujeron los geles en la cubeta de electroforesis y se añadió el tampón de recorrido.

**Tabla VII: Tampón de recorrido 5X**

Tris	7,5 g
Glicina	36 g
SDS	2,5 g
H <sub>2</sub> O, hasta	500 ml

(Concentraciones tras dilución 1/5: 0,0025 M Tris; 0,192 M Glicina; 0,1% SDS, pH 8,3).

Una vez preparado todo el sistema, con la ayuda de una micropipeta se cargaron las muestras motivo de estudio en su pocillo correspondiente. En cada pocillo se introdujo un volumen máximo de carga de 20  $\mu$ l con 60  $\mu$ g de proteína, a una concentración final de 2 $\mu$ g/ $\mu$ l, y con el marcador de peso molecular (ProSieve, Lonza).

Se conectó la cubeta a una fuente eléctrica con voltaje constante de 70 V. Una vez que las muestras pasaron el gel concentrador y, en consecuencia estaban compactadas y penetrando en el gel separador, se aumentó el voltaje a 120 V. Las muestras en el gel se dejaron migrar en estas condiciones hasta alcanzar la parte inferior del gel separador.

Transcurrido el tiempo suficiente para la separación de proteínas, se detuvo la electroforesis. De forma inmediata, los geles se dispusieron en el sistema de electrotransferencia en contacto con la membrana PVDF, al que fueron transferidas las proteínas del gel, y se añadió el tampón de electrotransferencia (**Tabla VIII**).

**Tabla VIII: Tampón de electrotransferencia**

Tris	5,82 g
Glicina	2,93 g
SDS	3,75 ml de 10% SDS
Disolver en 500 ml de H <sub>2</sub> O <sub>dd</sub>	
Metanol	200 ml
H <sub>2</sub> O <sub>dd</sub> , hasta	1000 ml

**(40 mM Tris, 39 mM Glicina, 20% Metanol, 0,0375% SDS, pH 9,2)**

Para iniciar la transferencia el sistema se conectó a la fuente eléctrica con un voltaje constante de 200 V durante 2 horas, una vez transferidas las proteínas se recogieron las membranas y se lavaron en TBS-T 1X durante 5 minutos. Para asegurarnos de que la transferencia fue correcta, se tiñeron las membranas con una disolución de rojo Ponceau, realizando posteriormente 2 lavados con TBS-T 1X (15ml/membrana) de 5 minutos (**Tabla IX**).

**Tabla IX: Solución colorante rojo Ponceau.**

Ponceau S	0,5 g
Ácido acético glacial	10 ml
Agua miliQ,	hasta 100 ml

El siguiente paso fue el bloqueo de las membranas con una solución TBS-T + 4% leche en polvo descremada y BSA al 1% durante 2 horas a temperatura ambiente en agitación. Una vez bloqueadas, se hicieron 2 lavados de 5 minutos en TBS-T y se pusieron en contacto con el anticuerpo primario diluido en TBS-T + 1% de leche en polvo descremada toda la noche a 4°C en agitación. Se utilizó el anticuerpo policlonal anti-SERT de conejo (AB9322, Chemicon) a la concentración de 1:100. Tras la incubación se lavaron las membranas 2 veces (15 minutos cada una) en TBS-T a temperatura ambiente en agitación y se añadió el anticuerpo secundario en TBS-T + 1% de leche descremada, un anticuerpo secundario anti-conejo ligado a la HRP, a la concentración de 1:2000. Finalizada la incubación realizamos 2 lavados de 15 minutos en TBS-T y revelamos con diaminobencidina (DAB).

### 3.2. Inmunocitoquímica

#### 3.2.1. Inmunocitoquímica en linfocitos de ratón

El análisis de la distribución de SERT en la membrana de los linfocitos y sus posibles alteraciones en los ratones reeler se realizó mediante detección *inmunocitoquímica*, a través de un proceso consecutivo de centrifugación y resuspensión en varios pasos. En primer lugar, los linfocitos de ratón se incubaron en 100 ml de solución con IgG de ratón (Sigma) en PBS con BSA al 1% durante 10 minutos, para bloquear las inmunoglobulinas de membrana. A continuación, se realizó una segunda incubación con el correspondiente anticuerpo primario, anti-SERT policlonal de conejo (AB9322, Chemicon) diluido 1:100 en PBS con BSA al 1%, durante toda la noche y a 4°C en agitación. Tras el periodo de incubación se lavó el exceso de anticuerpo en tampón PBS, realizando dos lavados de 10 minutos cada uno, y se añadió el anticuerpo secundario de cabra anti-conejo conjugado con Alexa Fluor 488 (Molecular Probes)

diluido 1:200 en PBS con BSA al 1%. La incubación con el anticuerpo secundario se prolongó durante 1 hora en oscuridad, con agitación y a temperatura ambiente. Por último, se lavaron de nuevo las muestras, con dos lavados de 10 minutos en PBS, se extendieron en portaobjetos gelatinizados y se cubrieron utilizando como medio de montaje 20 µl Moviol (Calbiochem). Las muestras se conservaron en el congelador a - 20°C hasta su análisis.

### **3.2.2. Inmunocitoquímica en linfocitos humanos**

#### Inmunocitoquímica simple: SERT

Los linfocitos humanos de pacientes e individuos control fueron procesados para inmunocitoquímica empleando el mismo método descrito anteriormente en ratón. Se incubaron los linfocitos en 100 ml de solución con IgG humanas (Sigma) en PBS con BSA al 1% durante 10 minutos, para bloquear las inmunoglobulinas de membrana. Se continuó incubándolos toda la noche a 4°C en agitación con el anticuerpo primario, anti-SERT policlonal de conejo (AB9322, Chemicon) diluido 1:100 en PBS con BSA al 1%. Tras el periodo de incubación se lavó el exceso de anticuerpo en tampón PBS, se realizaron dos lavados de 10 minutos cada uno, y se incubaron las muestras con el anticuerpo secundario de cabra anti-conejo conjugado con Alexa Fluor 488 (Molecular Probes) diluido 1:200 en PBS con BSA 1% durante 1 hora en oscuridad, con agitación y a temperatura ambiente. Después las muestras fueron lavadas de nuevo (2 lavados de 10 minutos en PBS), se extendieron en portaobjetos gelatinizados y se cubrieron utilizando como medio de montaje 20µl Moviol (Calbiochem).

#### Inmunofluorescencia doble: SERT y Marcador de Balsas lipídicas

Para estudiar la inclusión de SERT en microdominios de balsas lipídicas algunas muestras control se procesaron para inmunofluorescencia doble de anti-SERT (Chemicon) y el marcador de balsas lipídicas “Vibrant Alexa Fluor 594 Lipid Raft labelling” (Molecular Probes). Los linfocitos se incubaron en 100 ml de solución con IgGs humanas (Sigma) en PBS con BSA al 1% durante 10 minutos y a continuación se añadió el anticuerpo primario anti-SERT policlonal obtenido en conejo (1:100) y la subunidad B de la toxina colérica (CT-B) (1:100) en PBS con BSA al 1%, dejando la solución toda la noche en agitación a 4°C. La incubación con el anticuerpo primario y la subunidad B, se realizó en oscuridad dado que la subunidad B está conjugada con un fluoróforo Alexa Fluor 594. Después, los linfocitos se lavaron y se incubaron

durante 1 hora, en oscuridad, agitación y a temperatura ambiente, con el anticuerpo secundario de cabra anti-conejo conjugado con Alexa Fluor 488 (Molecular Probes) y el anticuerpo sérico anti-CTB diluidos ambos 1:200 en PBS con BSA al 1%. Finalmente las secciones se lavaron y se montaron utilizando como medio Moviol (Calbiochem).

#### Inmunocitoquímica con bisbenzimidida

Esta prueba se utilizó sobre linfocitos control para presentar el ADN nuclear de una manera sencilla. Pretendíamos comprobar que, efectivamente, los agrupamientos de SERT se encontraban en la superficie del linfocito. La técnica inmunocitoquímica se llevó a cabo de la misma forma que describimos en el apartado de “Inmunocitoquímica simple de SERT”, sin embargo, se añadió un paso más al final para comprobar la disposición en la superficie. Una vez que los linfocitos son extendidos sobre el portaobjetos esperamos a que se sequen y añadimos una dilución de bisbenzimidida al 1% en PBS durante 5 minutos. Retiramos el sobrante de bisbenzimidida y montamos los portaobjetos en Moviol.

#### Inmunocitoquímica simple: 5HT<sub>2A</sub>

El proceso seguido para llevar a cabo la localización del receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en la membrana de los linfocitos, así como, el estudio de su distribución y sus posibles alteraciones, fue el mismo que se describe en el apartado para la detección inmunocitoquímica simple de SERT. En este caso el anticuepo primario utilizado fue un anti-5-HT<sub>2A</sub> policlonal de conejo (RA24288, NEUROMICS) (Deltheil y cols., 2008; Magalhaes y cols., 2010; Abraham y cols., 2010, Yahad y cols., 2011), diluido 1:100 en PBS con BSA al 1%, y el anticuerpo secundario de cabra anti-conejo conjugado con Alexa Fluor 488 (Molecular Probes) diluido 1:200 en PBS con BSA 1%.

## 4. Neuroimagen y cuantificación

### 4.1. Microscopía confocal y Análisis de imagen (ImageJ)

La captura y tratamiento de las imágenes de los linfocitos para el posterior análisis de los resultados, fueron realizados empleando un microscopio láser confocal Leica TCS-SP2 (Leica Microsistemas).

La microscopía confocal nos permitió la posibilidad de analizar las muestras a partir de sus proyecciones máximas y de sus secciones ópticas. Para ello se fijó la posición de barrido del microscopio en un extremo de la estructura y se tomaron imágenes, correspondientes a diferentes secciones, hasta llegar al otro extremo. De cada linfocito se obtuvieron 20 secciones ópticas con una distancia entre secciones de 0,3 $\mu$ m, una imagen bidimensional de fluorescencia confocal generada a partir de las secciones (la proyección máxima) y una imagen de luz transmitida.

A pesar de todas las imágenes obtenidas mediante microscopía confocal de cada linfocito, en nuestro estudio se trabajó únicamente con la proyección máxima, dado que el método de cuantificación seleccionado así lo requería.

Todas las fotografías se tomaron con un aumento de 100x y un zoom de 3 constante (**Figura 1a**). La cuantificación del agrupamiento de las proteínas de estudio se llevó a cabo mediante un método automático de análisis, se utilizó la herramienta de procesamiento y tratamiento de imágenes ImageJ (1.44f) basada en el programa NIH Image (Macintosh), que permite abrir las imágenes almacenadas en formato Tif. que ofrece el sistema Leica. Para realizar la cuantificación, en primer lugar, fue necesario modificar la unidad de medida en el programa Image J, dado que las medidas que proporciona aparecen en pixels. A partir de una fotografía confocal original se obtuvo una barra de calibrado en micras que se trasladó al Image J para indicarle al programa la distancia en pixeles que equivale a la longitud de la barra de calibrado en micras. Seleccionamos *Analyze*

*Set Scale*, en la caja *Known Distance* introducimos el valor 10 (valor de la barra de calibrado en micras), seleccionamos *Rolling Ball Radius* y cambiamos la unidad de medida de pixels a micras, escribiendo **um** en la opción *Unit of Measurement*, por último seleccionamos *Global*.

El procesamiento de las imágenes se realizó siguiendo los pasos que se describen a continuación:

- se eliminó el fondo que pudiera haber en la imagen: **Process** → **Subtract Background**.

- se seleccionó el área del linfocito: **Freeham selections**.

- se convirtió la imagen en una imagen binaria (en blanco y negro):

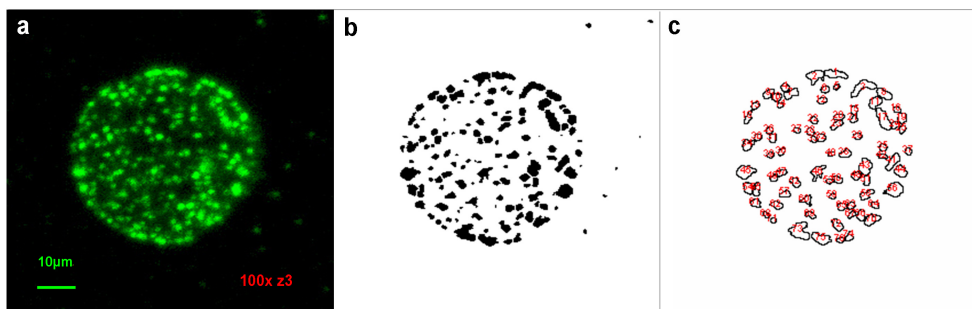
**Process** → **Binary** → **Make Binary**.

- se analizaron las partículas (los agrupamientos) especificando la medida en micras, mínima (0,05) y máxima (infinito), dentro de la que el programa debía trabajar.

El programa proporcionó las siguientes salidas: una imagen binaria del linfocito y una imagen cuantificada con cada partícula numerada (**Figura 1b, c**), una tabla **Resumen** que contiene el número total de agrupamientos, el área total ocupada por los agrupamientos, el tamaño medio de los agrupamientos y el porcentaje de área ocupada y una tabla de **Resultados** en la aparecen especificado cada agrupamiento cuantificado por el programa con su tamaño correspondiente.

Finalmente, se analizó otra variable, la intensidad de fluorescencia de los agrupamientos. Para conocer este parámetro, sobre la imagen original, se obtiene una imagen de superficie del linfocito. La intensidad de fluorescencia representada en el eje z estima el número de receptores por agrupamiento. Cuanto más estrechas y de mayor longitud en el eje “z” sean las señales fluorescentes, más número de agrupamientos habrá, de pequeño tamaño y con mayor número de receptores (**Figura 3**).





**Figura 1.** (a) Inmunofluorescencia simple para SERT. Microfotografía (100x z3) en la que se muestra un inmunomarcaje para SERT (verde) en un linfocito de un individuo control. Proyección máxima. (b) imagen binaria transformado mediante el programa Image J. (c) imagen cuantificada mediante Image J.

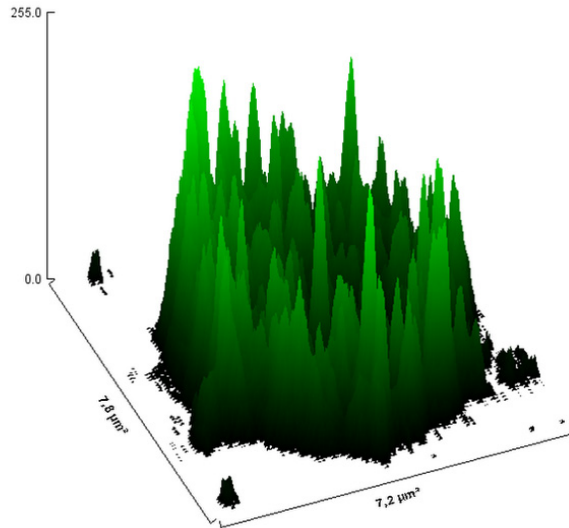
#### Resumen

Linfocito	Número de agrupamientos	Área Total	Tamaño Medio	Porcentaje de área ocupada
071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg.	76	11,043	0,145	18,4

#### Resultados

	Descripción	Tamaño
1	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,287
2	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,316
3	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,390
4	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,110
5	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,054
6	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,098
7	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,203
....	....	....
76	071116- SERT C4_Projection_02_ch00.tif.jpg	0,135

**Figura 2.** Tablas **Resumen** y **Resultados**, ambas tablas recogen los datos del procesamiento de la imagen de un linfocito control mediante el programa ImageJ.



**Figura 3.** Imagen de superficie correspondiente al linfocito mostrado en la **Figura 1**. En el eje z se representa la intensidad de fluorescencia, cada pico muestra un agrupamiento, cuanto más elevado es el pico de intensidad mayor número de receptores están presentes en dicho agrupamiento.

## 4.2. Variables de estudio y análisis estadístico

### 4.2.1. Variables de estudio en el modelo animal experimental

En el primer estudio, con el modelo animal reeler, se analizaron un conjunto de características moleculares que sirven para operativizar la variable de interés, el agrupamiento de SERT en dominios específicos de membrana de los linfocitos, y poder así estudiar posibles alteraciones en ellas.

Las características del agrupamiento de SERT analizadas fueron:

- La distribución del tamaño de los agrupamientos
- El número de agrupamientos
- El tamaño medio de los agrupamientos
- El porcentaje de área ocupada por los agrupamientos, y
- La intensidad de fluorescencia de los agrupamientos

Estas características se midieron y se compararon entre el grupo de ratones salvajes ( $Reln^{+/+}$ ), reeler heterocigotos ( $Reln^{+/-}$ ) y reeler homocigotos ( $Reln^{-/-}$ ) para comprobar si la presencia de reelina incide en el agrupamiento de SERT.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS (v 16.0). Las diferencias entre los tres grupos ( $Reln^{+/+}$ ,  $Reln^{+/-}$  y  $Reln^{-/-}$ ) en el número y tamaño de los agrupamientos y en el porcentaje de área que ocupan los agrupamientos se analizaron mediante una prueba estadística ANOVA de una sola cola, para cada una de las tres variables. Todos los resultados se expresaron en medias más el error estándar de la media. La significación estadística se estableció en  $p < 0,05$ .

Para evaluar las diferencias en la distribución del tamaño de los agrupamientos, se compararon los picos máximos de tamaño de la representación gráfica de cada grupo. Y, finalmente, para analizar las diferencias en la intensidad de fluorescencia se compararon las imágenes de superficie entre los grupos.

#### **4.2.2. Variables de estudio en sujetos humanos**

En el estudio con sujetos humanos, se diseñó una base de datos que contempló los datos sociodemográficos, clínicos y biológicos de los pacientes y sujetos control.

Las variables sociodemográficas que se analizaron en ambos grupos fueron: el sexo, la edad, el estado civil, la situación laboral y el nivel de estudios. Las variables biológicas de interés fueron las mismas características moleculares del agrupamiento de SERT analizadas en el modelo animal, con la excepción del porcentaje de área ocupada por los agrupamientos, y las variables clínicas que se tuvieron en cuenta fueron el diagnóstico clínico, el tratamiento prescrito y las puntuaciones totales que cada paciente obtuvo en las escalas HDRS de depresión y EAA de anhedonia.

Inicialmente se agruparon todos los datos en tablas de variables en SPSS (v 16.0) y se realizó un primer estudio de estadística descriptiva de todas las variables consideradas. La estrategia general estadística consistió en elaborar una tabla de doble entrada. En vertical se situaron todos los pacientes (código numérico) y a lo largo del eje longitudinal de la tabla (en columnas), se situaron de forma ordenada todos los datos relativos a cada paciente, algunos de una única determinación, cómo por ejemplo la edad, el sexo y a continuación las características biológicas y los parámetros clínicos, tomados antes y después de la administración del tratamiento farmacológico.

A partir de esta base de datos, se establecieron varios tipos de análisis:

- **Test *t* de Student para muestras independientes.** Esta prueba estadística se utilizó para determinar la existencia de diferencias entre el grupo control y el grupo de pacientes respecto a la variable sociodemográfica *edad*. Para evaluar las diferencias entre el grupo control y el grupo de pacientes en relación con los parámetros biológicos (*número y tamaño medio de los agrupamientos*) SERT-positivos y 5-HT<sub>2A</sub>-positivos. Y, para analizar las posibles variaciones en los parámetros biológicos y clínicos (*HDRS y EAA*) según el tipo de diagnóstico clínico (trastorno depresivo mayor *episodio único o múltiple*).

- **Prueba Chi-cuadrado.** Se aplicó en el análisis de las variables sociodemográficas *sexo, estado civil, situación laboral y nivel de estudios* en relación con la presencia del estado depresivo, para comprobar posibles diferencias entre el grupo control y el grupo depresivo respecto a estas variables. Asimismo, esta prueba permitió analizar dentro del grupo de pacientes las posibles diferencias en relación con el tipo de diagnóstico (trastorno depresivo mayor *episodio único o múltiple*) y con el *tipo de tratamiento antidepressivo*.

- **Prueba de Anova de una vía.** Permitted analizar las diferencias en el *número, tamaño y porcentaje de superficie ocupada por los agrupamientos* SERT-positivos en relación con los niveles de *concentración de reelerina* en los ratones reeler. En segundo lugar, se aplicó para analizar las diferencias en el número y tamaño medio de los agrupamientos entre el grupo control y los subgrupos depresivos (D-I y D-II) y las diferencias intergrupales (población depresiva total, D-I y D-II) en las puntuaciones totales de las escalas clínicas (*HDRS y EAA*). También se aplicó para analizar las posibles diferencias en los parámetros biológicos y en las puntuaciones totales de las escalas HDRS y EAA según el tipo de tratamiento psicofarmacológico. Cabe señalar que en el caso del análisis comparativo entre los subgrupos depresivos y la población depresiva total o respecto al grupo control se realizaron a mayores pruebas para comparar por pares cada uno de los grupos con los restantes, mediante el **Test Post hoc de Bonferroni**, y poder determinar cual es el grupo que difiere del resto, dado que el análisis ANOVA sólo indica si hay diferencias entre los grupos, pero no profundiza cual de entre todos los grupos es el que difiere de los restantes.

- **Prueba de Anova de dos vías.** Se utilizó para analizar simultáneamente el efecto de dos factores sobre los parámetros biológicos y la escala EAA, por un lado el efecto del tipo de diagnóstico y el tiempo de tratamiento y por otro el efecto del tipo tratamiento y el tiempo de tratamiento.

- **Correlación de Pearson.** El análisis correlacional se llevó a cabo para comprobar la

posible asociación entre los parámetros clínicos y los parámetros biológicos.

- Finalmente, el **Test *t* de Student** para muestras relacionadas, se utilizó para estudiar el efecto del tratamiento psicofarmacológico sobre los parámetros biológicos y clínicos, comparando cada grupo antes y después del tratamiento.

Todos los datos se representaron como medias más el error estándar de la media (ESM).

El criterio de significación estadística establecido fue  $p < 0,05$ .



**Resultados**

**y**

**Discusión**





# **Capítulo I**

**Alteraciones en la agrupación del  
transportador de serotonina en la  
membrana de linfocitos de ratones  
reeler**



## **A. Introducción**

El agrupamiento de proteínas en dominios de membrana específicos y funcionalmente significativos es una característica de gran importancia para la regulación funcional de las proteínas de membrana, claros ejemplos son: el agrupamiento de los receptores en los lugares postsinápticos activos, la formación de la sinapsis inmunológica, la distribución de las proteínas de membrana en los dominios de balsas lipídicas, y la agrupación de las proteínas de membrana para ser internalizadas.

El transportador SERT pertenece a la familia de transportadores SLC6 dependientes de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  sodio, y es el primer responsable de la recaptación de la serotonina liberada desde el espacio extracelular (Horschitz y col., 2001; Rudnick, 2006). La agrupación de SERT en dominios específicos de membrana, como en las balsas lipídicas (Magnani y col., 2004), su oligomerización (Schimid y col., 2001; Just y col., 2004) y la distribución subcelular de SERT (Müller y col., 2006) parecen ser aspectos críticos para la actividad de la recaptación de la serotonina. SERT es la principal diana terapéutica de los f antidepresivos, y alteraciones tanto en la expresión como en la actividad de SERT han sido descritos en relación con los trastornos afectivos y psicóticos. De hecho, la disminución en los lugares de unión de SERT en plaquetas sanguíneas es uno de los biomarcadores mejor caracterizados de la depresión (Mössner y col., 2007), y esta disminución también se ha encontrado en linfocitos periféricos en depresión (Urbina y col., 1999; Lima y Urbina, 2002; Peña y col., 2005).

La reelina es una gran proteína de la matriz extracelular abundante en el tejido cerebral cuyos niveles se encuentran alterados en numerosos trastornos neuropsiquiátricos (Impagnatiello y col., 1998; Fatemi y col., 2000, 2002; Eastwood y Harrison, 2003). La Reelina también se expresa en el plasma sanguíneo (Smalheiser y col., 2000), y las alteraciones en los niveles plasmáticos de la reelina se encuentran en diferentes trastornos psiquiátricos como en la esquizofrenia, los trastornos del estado de ánimo y el autismo (Fatemi y col., 2001a; 2002), aunque no es fácil adquirir una medición precisa de los niveles plasmáticos de reelina debido a su sensibilidad a la proteólisis y a los ciclos de congelación-descongelación (Lugli y col., 2003).

Las principales acciones de la reelina en el sistema nervioso son la regulación de la migración neuronal y la sinaptogénesis en áreas corticales durante el desarrollo del cerebro (es decir, la corteza cerebral, hipocampo, bulbo olfatorio y el cerebelo), y más tarde la estabilización de los contactos sinápticos en las espinas dendríticas en el cerebro adulto regulando de este modo la plasticidad sináptica [ver (Tissir y Goffinet, 2003; Herz y Chen, 2006; Rogers y Weeber,

2008]. Estas acciones están mediadas a nivel molecular por la interacción de la reelina con los receptores ApoER2 y VLDLR, y por llevar a cabo la fosforilación de la proteína adaptadora DAB1 y la activación de los receptores tirosin cinasas [revisado por (Herz y Chen, 2006; Rogers y Weeber, 2008)]. Además, la reelina también se une a receptores de integrinas regulando al alza la traducción de ARNm específicos en las espinas dendríticas (Dong y col., 2003), y aumentando el número y la agrupación de proteínas transmembrana en los dominios de la membrana postsináptica (Caruncho y col., 2004).

Si bien las acciones de la reelina en el sistema nervioso han sido bien estudiadas, no hay tanto conocimiento sobre las posibles acciones de la reelina en la periferia, en el plasma sanguíneo, aunque se sabe que la reelina en plasma es secretada principalmente por los hepatocitos (Smalheiser y col., 2006), y procesada por el activador de plasminógeno y la plasmida (Lugli y col., 2003).

Un buen modelo para analizar los efectos que la disminución o la expresión nula de reelina pueden producir en el agrupamiento de SERT en dominios específicos de la membrana de los linfocitos es el ratón homocigoto reeler. Los ratones homocigotos reeler ( $Reln^{-/-}$ ) no muestran niveles detectables de reelina en plasma, mientras que los ratones reeler heterocigotos ( $Reln^{+/-}$ ), expresan la mitad de reelina en plasma que sus compañeros salvajes de la colonia ( $Reln^{+/+}$ ) (Smalheiser y col., 2000). Si analizamos las diferencias del agrupamiento de SERT en la membrana de los linfocitos entre los ratones reeler homocigotos y heterocigotos podemos averiguar si en la depresión existe una alteración de la agrupación de SERT.

## B. Resultados

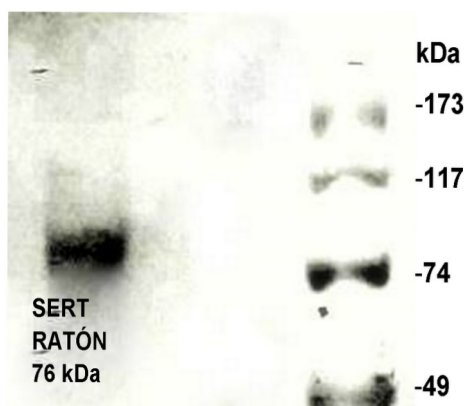
En este estudio se han analizado las variaciones en el número y tamaño de los agrupamientos de SERT y el porcentaje de superficie ocupada por los agrupamientos, en relación con los niveles de concentración de reelina en tres grupos de ratones: ratones tipo-salvaje, ratones heterocigotos reeler y ratones homocigotos reeler. Para ello se realizó una prueba del análisis de varianza (Anova de una cola) y un análisis post hoc de comparaciones múltiples de los tres grupos de estudio (Test de Bonferroni).

El criterio de corte para la significación estadística fue el nivel  $p < 0,05$  y todos los datos han sido representados como medias  $\pm$  el error estándar de la media.

### 1.1. Estudio de la expresión del transportador de serotonina (SERT) en la membrana de linfocitos de ratones reeler.

#### 1.1.1. Detección mediante western blot de la expresión proteica del transportador SERT en linfocitos de ratón.

En primer lugar comprobamos la especificidad de nuestro anticuerpo primario, anti-SERT policlonal de conejo (AB9322, Chemicon), para el reconocimiento de SERT en linfocitos. La **Figura 1** muestra una banda específica correspondiente al tamaño de la banda detectada en la membrana de los linfocitos, en torno al valor de 70-80 kDa.

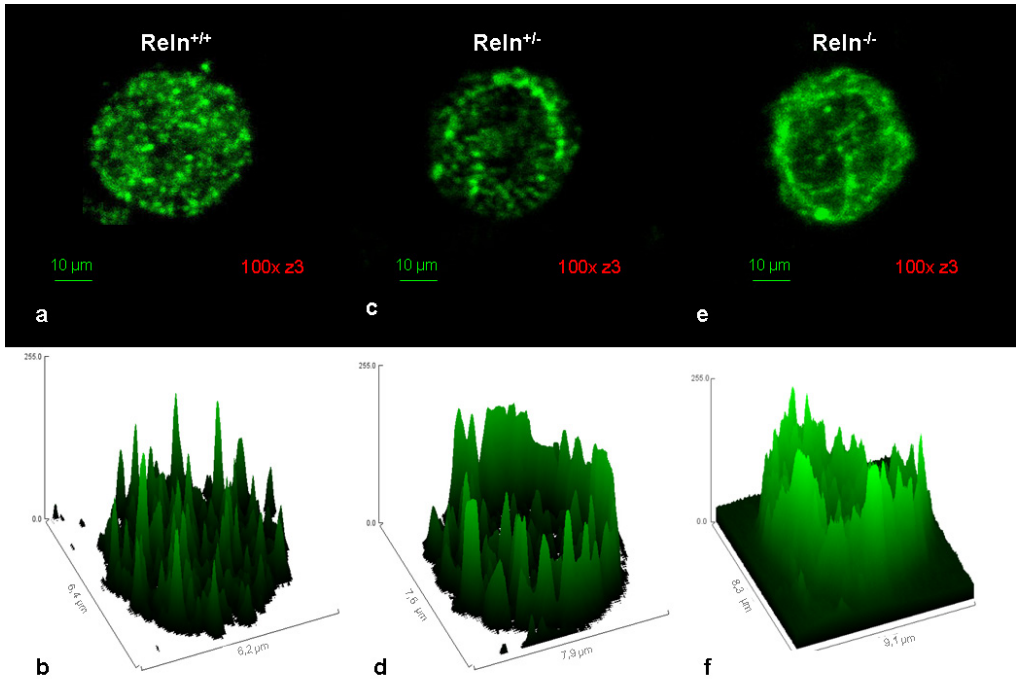


**Figura 1.** Expresión del transportador SERT detectado por western blot. A la derecha se indican los tamaños de masa molecular obtenidos por la migración en paralelo de un marcador de pesos moleculares. El transportador fue detectado en la membrana de los linfocitos con un peso aproximado de 70-80 kDa.

### 1.1.2. Inmunomarcaje de la agrupación de SERT en linfocitos de ratón.

El inmunomarcaje de SERT fue persistente en toda la población de linfocitos, evidente en forma de agrupamientos inmunofluorescentes en la superficie de la membrana celular, tanto en los ratones salvajes como en ratones heterocigotos reeler y ratones homocigotos reeler [**Figura 2 (a, c y e)**].

La observación directa del inmunomarcaje de SERT en los linfocitos mostró que los agrupamientos de SERT fueron más fáciles de discriminar en la membrana de los linfocitos de ratones tipo salvaje ( $Reln^{+/+}$ ) que en los linfocitos de ratones reeler heterocigotos ( $Reln^{+/-}$ ) y homocigotos ( $Reln^{-/-}$ ), para los que la tinción de SERT fue borrosa y de menor intensidad, como se aprecia en los gráficos de superficie [**Figura 2 (b, d y f)**]. Además, se observó un aumento en el tamaño de los agrupamientos de SERT en los linfocitos de ratones heterocigotos y homocigotos reeler respecto al tipo salvaje, tanto en las imágenes confocales como en los gráficos de superficie. En estos últimos los picos fluorescentes en el eje z reflejan el número de picos, estimando el número de agrupamientos, la intensidad de fluorescencia, que indica el número de receptores por agrupamiento, y el grosor de los picos, que indica el tamaño de los agrupamientos.



**Figura 2.** Inmunofluorescencia (a, c, e) y gráficos de superficie (b, d, f) para el transportador de serotonina, SERT, en linfocitos sanguíneos de ratones tipo salvaje (ReIn<sup>+/+</sup>), heterocigotos reeler (ReIn<sup>+/-</sup>) y homocigotos reeler (ReIn<sup>-/-</sup>). Micrográficas (100X) en las que se muestra el agrupamiento de SERT en la superficie de la membrana celular. El tamaño de los agrupamientos SERT-positivos aparece aumentado en ratones heterocigotos y homocigotos reeler, mientras que la intensidad de marcaje está disminuida como se observa en el análisis gráfico de superficie.

**1.2. Análisis estadístico de la expresión de SERT en linfocitos de ratones reeler.**

El análisis estadístico indica que el número de agrupamientos de SERT inmunopositivos por linfocito está aumentado sobre un 50% en ratones  $Reln^{+/-}$  en comparación con ratones  $Reln^{+/+}$ , mientras que en ratones  $Reln^{-/-}$  el número de agrupamientos es similar al de los ratones tipo salvaje, y por lo tanto, menor que en los ratones  $Reln^{+/-}$  (**Figura 3a y Tabla I**).

Respecto al tamaño medio de los agrupamientos de SERT, éste es un 27 % más grande en los ratones  $Reln^{+/-}$  en comparación con los ratones  $Reln^{+/+}$ , mientras que en los ratones  $Reln^{-/-}$  el tamaño medio es más del doble que los ratones  $Reln^{+/+}$ , con un aumento del tamaño que supera el 100%, y es un 64% más grande que en los ratones  $Reln^{+/-}$  (**Figura 3b y Tabla I**).

Por último, el porcentaje de superficie del linfocito ocupada por los agrupamientos de SERT es también mayor en ratones  $Reln^{+/-}$  (con un aumento del tamaño del 50%) y en ratones  $Reln^{-/-}$  (con un aumento del 119%) con respecto a los ratones  $Reln^{+/+}$  (**Figura 3c y Tabla I**). Además hay un aumento de un 47% aproximadamente en el mismo valor en ratones  $Reln^{+/-}$  (**Figura 3c y Tabla I**).

**Tabla I.** Análisis estadístico de los agrupamientos SERT-positivos en linfocitos de ratones  $Reln^{+/+}$ ,  $Reln^{+/-}$ , and  $Reln^{-/-}$ .

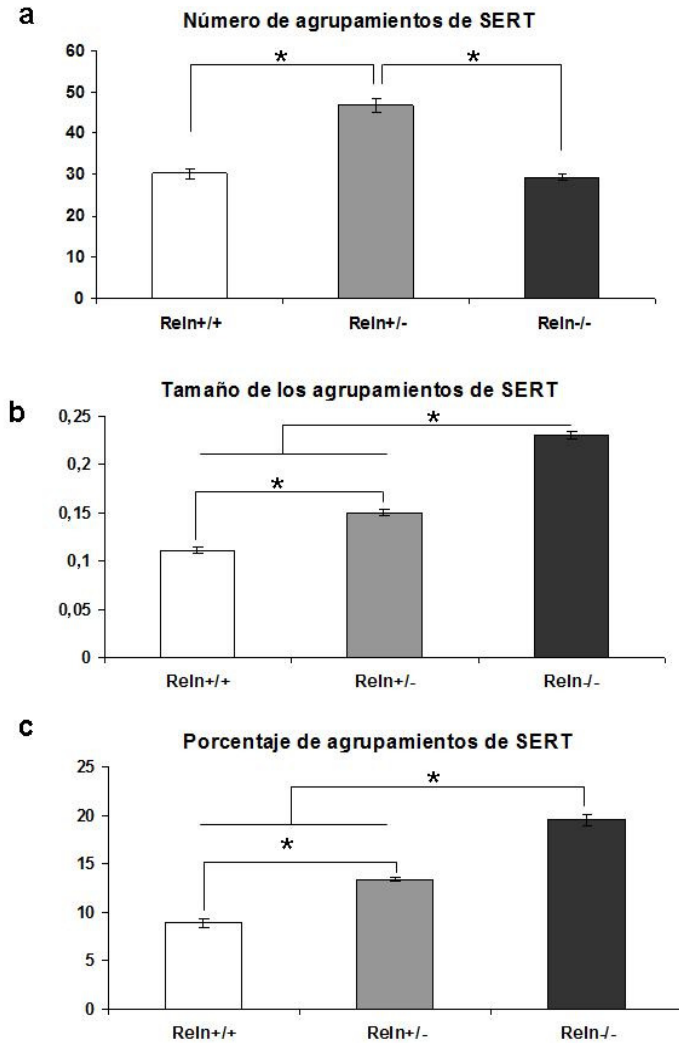
<b>Agrupamientos SERT-positivos</b>	<b><i>Reln</i><sup>+/+</sup></b>	<b><i>Reln</i><sup>+/-</sup></b>	<b><i>Reln</i><sup>-/-</sup></b>
Número medio	30,8 ± 1,08	46,7 ± 1,47 <sup>a</sup>	29,3 ± 0,72
Tamaño medio	0,11 ± 0,003	0,14 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,004 <sup>c</sup>
% de superficie del linfocito ocupada	8,88 ± 0,32	13,3 ± 0,22 <sup>d</sup>	19,5 ± 0,59 <sup>e</sup>

Significación estadística  $p < 0,05$

**a, b, d.** Diferente que en ratones  $Reln^{+/+}$  y  $Reln^{-/-}$

**c, e.** Diferente que en ratones  $Reln^{+/+}$  y  $Reln^{+/-}$

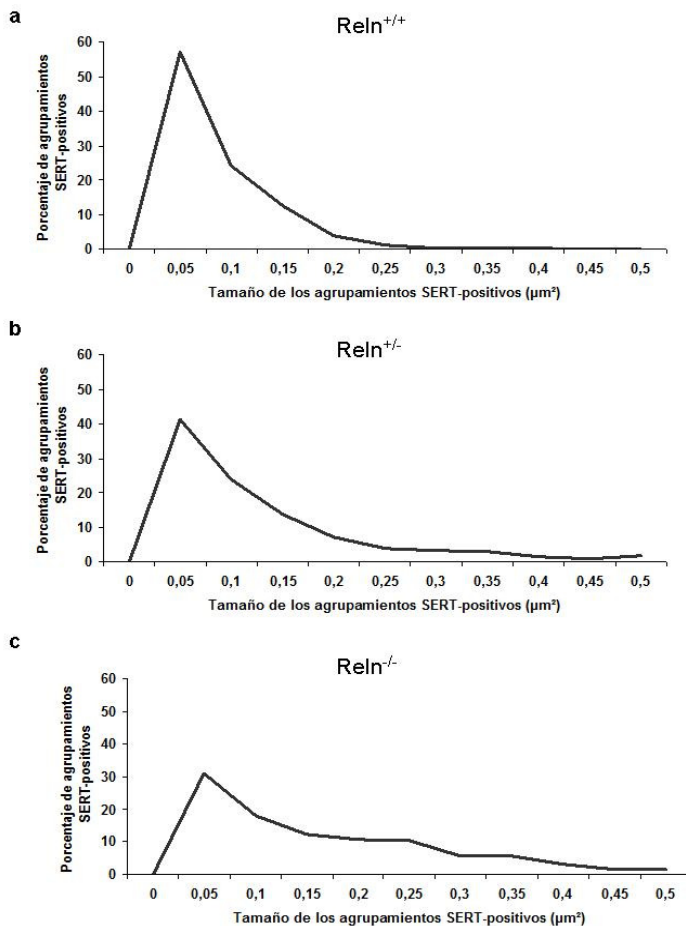




**Figura 3.** Resultados del análisis de imágenes de los agrupamientos SERT-positivos en linfocitos de sangre. **(a)** Número medio de agrupamientos por linfocito, **(b)** tamaño medio de los agrupamientos y **(c)** porcentaje de la superficie ocupada por los agrupamientos SERT- positivos en los linfocitos de ratones tipo salvaje (  $ReIn^{+/+}$ ), heterocigotos reeler ( $ReIn^{+/-}$ ) y homocigotos reeler (  $ReIn^{-/-}$ ). Los datos están representados con la media  $\pm$  ESM. Significación  $p < 0,05$ , Anova de una vía y test de Bonferroni a posteriori.

**1.3. Análisis de la distribución de la expresión de SERT en linfocitos de ratones reeler.**

La representación gráfica de la distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos en los linfocitos sanguíneos indica que en los ratones  $Reln^{+/+}$  el 60 % de los agrupamientos están comprendidos en el intervalo entre 0,05 y 0,10  $\mu\text{m}^2$ , mientras que este porcentaje es sólo de un 40 % en los linfocitos de los ratones  $Reln^{+/-}$  y de un 30 % en los linfocitos de los ratones  $Reln^{-/-}$  (Figura 4).



**Figura 4.** Representación de la distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos. El pico del tamaño de los agrupamientos entre 0,05 y 0,10  $\mu\text{m}^2$  está disminuido en los ratones heterocigotos reeler (b) y homocigotos reeler (c) respecto a los ratones salvajes (a), mientras que hay un aumento paralelo de los agrupamientos más grandes.

## C. Discusión

Por lo que sabemos este es el primer intento que se realiza de estudiar las alteraciones de la agrupación de SERT en linfocitos de ratones reeler. Los resultados muestran que una disminución de aproximadamente la mitad en los niveles de reelina en plasma, como la observada en los ratones  $\text{Reln}^{+/-}$ , provoca un aumento en el número y en el tamaño de los agrupamientos SERT-positivos, mientras que en los ratones  $\text{Reln}^{-/-}$ , que muestran una expresión nula de reelina, si bien el número de agrupamientos de SERT es similar al observado en los ratones  $\text{Reln}^{+/+}$ , el tamaño es mucho mayor no sólo al observado en los ratones  $\text{Reln}^{+/+}$ , sino también al de los ratones  $\text{Reln}^{+/-}$ .

Un aspecto importante a tener en cuenta en caso de una posible replicación de estos estudios, es el considerar la fijación empleada, tanto el tiempo como la temperatura de fijación a la que se llevaron a cabo los ensayos, ya que ambos parámetros pueden afectar al grado de agrupación de las proteínas de membrana. Se ha demostrado que en los ensayos realizados con marcadores de balsas de lipídicas un aumento en la cantidad de fijador tiende a reducir el marcaje de los marcadores de membrana, mientras que una disminución en la cantidad de fijador y/o una disminución en la temperatura de fijación tiende a aumentar el tamaño de las balsas lipídicas, determinado por inmunomarcaje (Cheng y col., 2009).

Muchos han sido los estudios que se han centrado en el estudio de las alteraciones en el cerebro y en el comportamiento de ratones heterocigotos y homocigotos reeler (Tueting y col., 1999; Podhorna y Didrisen, 2004; Tueting y col., 2006; Laviola y col., 2009), sin embargo, no hay tantos estudios sobre las alteraciones a nivel periférico, por ejemplo, en células sanguíneas de ratones reeler. Curiosamente, un estudio de Green-Johnson y col. (1995), muestra una supresión de la función de células T y macrófagos en ratones reeler. Estos autores demostraron que existe una disminución en la proliferación de células CD3-T positivas del bazo en ratones  $\text{Reln}^{-/-}$  (pero no ratones  $\text{Reln}^{+/-}$ ) después de la activación del sistema inmune, mediante la inyección de anticuerpos anti-CD3 durante tres días y, también, una disminución en la producción de IL-2, IL-4 e interferón en ratones  $\text{Reln}^{-/-}$ , pero que sólo disminuyó significativamente en la producción de IL-4 (pero no en los otros parámetros) en ratones  $\text{Reln}^{+/-}$  (Green-Johnson y col., 1995). En el momento de esta publicación, no había evidencia de expresión de reelina en el plasma sanguíneo, por lo que los autores estaban discutiendo la posibilidad de que las alteraciones encontradas en los linfocitos T en ratones  $\text{Reln}^{-/-}$  podrían estar relacionadas con alteraciones en el sistema nervioso (sobre todo en el cerebelo).

Sin embargo, con el descubrimiento de la expresión de reelina en el plasma sanguíneo, parece más evidente la existencia de una posible conexión directa entre la disminución de los niveles de reelina en el plasma sanguíneo y las alteraciones observadas en las células T de ratones  $Reln^{-/-}$ . Nuestros datos muestran un aumento del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos tanto en ratones  $Reln^{+/-}$  como  $Reln^{-/-}$ , aunque este incremento es mucho mayor en los ratones  $Reln^{-/-}$ , donde el tamaño medio de los agrupamientos es más del doble que en los ratones  $Reln^{+/+}$  y un 60% más grande que en los ratones  $Reln^{+/-}$ . Además, los gráficos de superficie que definen los agrupamientos linfocitarios de SERT mediante inmunofluorescencia, parecen indicar una disminución en la intensidad de fluorescencia de los agrupamientos, que es especialmente pronunciada en los linfocitos  $Reln^{-/-}$ , y un incremento en el número de agrupamientos de SERT en ratones  $Reln^{+/-}$  pero no en ratones  $Reln^{-/-}$ .

Esto podría interpretarse como una alteración en la agrupación de SERT, reflejando una acumulación de agrupamientos de SERT de tamaño pequeño en ratones  $Reln^{+/+}$ , mientras que una disminución en la expresión de reelina traería consigo la propagación de agrupamientos de SERT de mayor tamaño. El agrupamiento de SERT en los dominios de balsas lipídicas es importante para las funciones de SERT (Magnani y col., 2004) y es posible que una disminución en los niveles de reelina provoque una alteración de esta agrupación. En los ratones  $Reln^{+/-}$ , la propagación de los agrupamientos de SERT en las membranas de los linfocitos es mucho menor que en los ratones  $Reln^{-/-}$  y, además, hay un aumento del 50% en el número de agrupamientos de SERT en ratones  $Reln^{+/-}$  que podría representar un mecanismo de compensación que no es evidente en ratones  $Reln^{-/-}$ . Estos hechos tal vez podrían explicar en parte por qué las alteraciones son menores en las células T de ratones  $Reln^{+/-}$  que de ratones  $Reln^{-/-}$  como observaron Green-Johnson y col., (1995).

Se ha demostrado que la reelina induce la expresión y la agrupación de algunas proteínas transmembrana en los sinaptosomas (Caruncho y col., 2004), que induce el agrupamiento de sus propios receptores (Strasser y col., 2004), y que regula el tráfico de receptores NMDA en la superficie celular (Groc y col., 2007), por lo tanto, no es sorprendente que se produzca una difusión del marcaje de SERT en la membrana de los linfocitos en los ratones  $Reln^{+/-}$  y  $Reln^{-/-}$ . De hecho, es posible que la reelina pueda estar implicada en la regulación del agrupamiento de varias proteínas de membrana, entre ellas algunos receptores y transportadores de neurotransmisores. Aunque los niveles de serotonina en el cerebro parecen estar alterados en los ratones  $Reln^{+/-}$ , tanto los ratones  $Reln^{+/+}$  como los  $Reln^{+/-}$  muestran un aumento en los niveles de serotonina en el cerebro después de la separación materna temprana de los cachorros (Ognibene y col., 2008). Además, al menos en los ratones  $Reln^{-/-}$  se producen alteraciones importantes en la

inervación serotoninérgica en la corteza cerebral (Gilerovich y Grigor'ev, 2005). Por lo tanto, estamos estudiando las posibles alteraciones en la agrupación de SERT en el cerebro de estos ratones. La reelina está implicada en diversos trastornos mentales como en esquizofrenia, autismo y trastornos del estado de ánimo, mostrando una disminución general en diferentes áreas cerebrales tanto en esquizofrenia como en autismo, sin embargo, esa disminución podría ser más específica en el trastorno depresivo mayor (Impagnatiello y col., 1998; Guidotti y col., 2000; Fatemi y col., 2000a; Fatemi y col., 2002b). Los niveles de reelina y su procesamiento también aparecen alterados en el plasma sanguíneo en esquizofrenia, autismo y en los trastornos del estado de ánimo. Curiosamente, los niveles de reelina aparecen altamente disminuidos tanto en el cerebro como en plasma en el autismo (Fatemi y col., 2002a; Fatemi y col., 2001b; Persico y col., 2001; Fatemi y col., 2001c; Fatemi y col., 2002b; Fatemi y col., 2005b), un trastorno que también se caracteriza por hiperserotonemia en sangre (Whitaker-Azmitia, 2005; McNamara, 2008). Teniendo en cuenta las alteraciones en la agrupación de SERT en los linfocitos de ratones deficientes en reelina como se muestra en este informe, se debe considerar la posibilidad de una alteración similar en los linfocitos de pacientes autistas que tienen bajos niveles de reelina en plasma y altos niveles de serotonina plasmática. Además, sería interesante estudiar la posible relación entre los bajos niveles de reelina en plasma y la hiperserotonemia en sangre observada en estos pacientes, así como un posible aumento en los niveles de serotonina en el plasma sanguíneo de los ratones deficientes en reelina.

Los resultados de este estudio pueden también plantear un punto de importante interés como sería considerar las acciones de la reelina plasmática sobre la agrupación de SERT en los linfocitos como un posible factor de importancia en la comprensión de la comorbilidad entre las alteraciones en el sistema inmune y/o vascular y estos trastornos mentales.



**Capítulo II**

**Alteraciones de la agrupación del  
transportador de serotonina en la  
membrana de linfocitos en relación con  
la Escala de Depresión de Hamilton  
(HDRS)**





## A. Introducción

Los biomarcadores representan características del organismo que pueden medirse y evaluarse de forma objetiva, obteniendo información sobre procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Las características clínicas de la depresión y la existencia de un buen número de pacientes que presentan depresión resistente al tratamiento indican que el descubrimiento de biomarcadores de eficacia terapéutica podría ser uno de los principales enfoques para el desarrollo de un tratamiento personalizado de la depresión (Nemeroff y Vale, 2005; Holsboer, 2008; Nakajima y col., 2010; Rivera-Baltanas y Caruncho, 2010).

El transportador de la serotonina (SERT) es una de las principales dianas terapéuticas de los fármacos antidepresivos, que actúan principalmente mediante el bloqueo de la serotonina (5-HT) y de ese modo facilitan la neurotransmisión serotoninérgica. Como se ha observado sistémica con los neurotransmisores (no son exclusivos del sistema nervioso), SERT también se encuentra en células fuera del SNC, tales como plaquetas (Mercado y Kilic, 2010) y linfocitos (Faraj y col., 1994; Marazziti y col., 1998), así como en células enterocromafines del epitelio intestinal (Gershon, 2003). De hecho, la disminución de la unión de SERT en plaquetas es uno de los marcadores biológicos mejor caracterizados de depresión (Mössner y col., 2007; Rivera-Baltanas y Caruncho, 2010). Asimismo, se ha observado una disminución en la expresión de SERT en linfocitos de pacientes depresivos que puede ser parcialmente recuperada tras la administración del tratamiento antidepresivo (Urbina y col., 1999; Lima y Urbina, 2002; Peña y col., 2005; Fazzino y col., 2008, 2009). La expresión de SERT en linfocitos, sus roles funcionales (Gregory y col., 2003; Marazziti y col., 2010; Ahern, 2011), y su alteración en depresión, tal vez puedan relacionarse con el aumento de la producción de citocinas inflamatorias, propuesto como un factor importante en la fisiopatología de la depresión mayor (Razón y col., 2006; Maes y col., 2009; Miller y col., 2009). Además, se ha observado que el nivel de citocinas inflamatorias correlaciona en algunos pacientes con un déficit en la respuesta al tratamiento antidepresivo (Maes y col., 1997; Sluzewska y col., 1997).

La agrupación de SERT en dominios específicos de membrana, como las balsas lipídicas (Magnani y col., 2004), su oligomerización (Schmid y col., 2001; Just y col., 2004) y su distribución subcelular (Müller y col., 2006), parecen ser fundamentales para la recaptación de la 5-HT. Como mostramos en el Capítulo 1 de la Tesis, los ratones que presentan una disminución en los niveles de la proteína de la matriz extracelular reelina (ratones reeler heterocigotos) presentan alteraciones en la agrupación de SERT en la membrana plasmática de

linfocitos (determinado por inmunocitoquímica), mostrando un incremento tanto en el número como en el tamaño de los agrupamientos SERT-positivos (Rivera-Baltanas y col., 2010). Esto podría ser importante ya que estos animales no sólo muestran una desregularización funcional de los linfocitos T y los macrófagos (Green-Johnson y col., 1995), sino que también son más vulnerables a los efectos de la depresión inducida por el tratamiento prolongado con corticosterona (Lussier y col., 2011), y muestran una expresión alterada de la óxido nítrico sintasa neuronal (y, posiblemente, una mayor vulnerabilidad al estrés oxidativo) en las células piramidales en cesta dentadas reelina-positivas (Romay-Tallon y col., 2010). Además, se han encontrado alteraciones específicas de la expresión de reelina en el hipocampo de modelos animales de depresión (Lussier y col., 2009), así como en el hipocampo de muestras de depresión post-mortem (Fatemi y col., 2000). La reelina no sólo se observa en el tejido cerebral, también se expresa en el plasma sanguíneo (Smalheiser y col., 2000) y en los vasos linfáticos (Samama y Boehm, 2005). En el plasma sanguíneo de pacientes con depresión los niveles de Reelina aparecen alterados (Fatemi y col., 2001), y la expresión del receptor de reelina ApoE2R se encuentra disminuida en linfocitos en la depresión mayor (Suzuki y col., 2010). Además, la reelina induce el agrupamiento de sus propios receptores (Strasser y col., 2004) y la adición de proteínas reelina recombinantes aumenta los niveles de expresión y agrupamiento de las proteínas de membrana en la preparación de sinaptosomas (Dong y col., 2003; Caruncho y col., 2004).

Todos estos datos recogidos (las alteraciones de la unión de SERT en linfocitos, la inflamación y liberación de citocinas asociadas con la depresión, las alteraciones en la agrupación de SERT en linfocitos de modelos animales, el ratón reeler heterocigoto, que muestra una disminución en los niveles de reelina y una mayor vulnerabilidad a los efectos depresivos del tratamiento prolongado con corticosterona, y las alteraciones de los niveles de reelina en el cerebro y en muestras sanguíneas de depresión mayor) nos llevó a la hipótesis de que la agrupación de SERT en la membrana plasmática de los linfocitos puede estar alterada en la depresión mayor, y que esta alteración podría ser revertida al menos parcialmente, mediante el tratamiento con antidepresivos, pudiendo correlacionar con algunas medidas clínicas de depresión y/o niveles de eficacia terapéutica, lo que podría ser importante debido al alto número de pacientes con depresión que no muestran síntomas de remisión después del tratamiento antidepresivo, y el escaso beneficio de los fármacos antidepresivos sobre el placebo (Ioannidis, 2008; Kirsch y col., 2008)

## **B. Resultados**

### **2.1. Características demográficas y clínicas de los sujetos de estudio.**

Para este estudio se llevó a cabo una selección de la muestra en base a los criterios de inclusión y exclusión expuestos en el apartado de Material y Métodos. Un total de 60 sujetos fueron seleccionados, de los cuales 12 sujetos fueron eliminados de la muestra por encontrarse en alguna de las siguientes circunstancias: no cumplimentar al menos el 70% de los cuestionarios, mostrar una conducta agitada o falta de colaboración, estar hospitalizado en el momento de realizar la entrevista o mostrar conducta suicida, obteniendo una muestra integrada por 48 casos con diagnóstico de trastorno del estado de ánimo (**Tabla I**).

**Tabla I.** Características demográficas y clínicas de la muestra de estudio

<b>ORDEN</b>	<b>SEXO</b>	<b>EDAD</b>	<b>DIAGNÓSTICO</b>
1	Mujer	68	Trastorno Bipolar
2	Hombre	45	Trastorno Bipolar
3	Mujer	30	Trastorno Depresivo mayor
4	Mujer	42	Trastorno Depresivo mayor
5	Mujer	64	Trastorno Depresivo mayor
6	Mujer	44	Trastorno Depresivo mayor
7	Mujer	45	Trastorno Depresivo mayor
8	Mujer	45	Trastorno Depresivo mayor
9	Mujer	48	Trastorno Depresivo mayor
10	Hombre	43	Trastorno Depresivo mayor
11	Mujer	63	Trastorno Depresivo mayor
12	Hombre	54	Trastorno Depresivo mayor
13	Hombre	43	Trastorno Depresivo mayor
14	Mujer	54	Trastorno Depresivo mayor
15	Mujer	36	Trastorno Depresivo mayor
16	Mujer	19	Trastorno Depresivo mayor
17	Hombre	47	Trastorno Depresivo mayor
18	Mujer	40	Trastorno Depresivo mayor
19	Hombre	29	Trastorno Depresivo mayor
20	Hombre	73	Trastorno Depresivo mayor
21	Mujer	47	Trastorno Bipolar
22	Mujer	33	Trastorno Bipolar
23	Mujer	38	Trastorno Bipolar
24	Mujer	37	Trastorno Depresivo mayor
25	Hombre	70	Trastorno Depresivo mayor
26	Mujer	33	Trastorno Depresivo mayor
27	Mujer	21	Trastorno Depresivo mayor
28	Hombre	32	Trastorno Depresivo mayor
29	Hombre	61	Trastorno Depresivo mayor
30	Mujer	20	Trastorno Depresivo mayor
31	Hombre	41	Trastorno Depresivo mayor
32	Mujer	33	Trastorno Depresivo mayor
33	Hombre	24	Trastorno Depresivo mayor
34	Hombre	27	Trastorno Depresivo mayor
35	Hombre	53	Trastorno Depresivo mayor
36	Hombre	30	Trastorno Depresivo mayor
37	Mujer	60	Trastorno Depresivo mayor
38	Mujer	69	Trastorno Distímico
39	Mujer	62	Trastorno Distímico
40	Mujer	60	Trastorno Depresivo mayor
41	Mujer	47	Trastorno Depresivo mayor
42	Mujer	52	Trastorno Distímico
43	Mujer	31	Trastorno Distímico
44	Mujer	32	Trastorno Depresivo mayor
45	Mujer	65	Trastorno Depresivo mayor
46	Hombre	57	Trastorno Depresivo mayor
47	Mujer	40	Trastorno Depresivo mayor
48	Hombre	33	Trastorno Distímico

La **Tabla I** muestra que 38 pacientes recibieron el diagnóstico de trastorno depresivo mayor (TDM), 5 pacientes fueron diagnosticados con trastorno distímico (TD) y otros 5 pacientes con trastorno bipolar (TB). Con el objetivo de formar un grupo de estudio lo más homogéneo posible y poder establecer asociaciones entre los parámetros clínicos y los parámetros biológicos de análisis, se eliminaron de la muestra todos aquellos casos de trastorno distímico y trastorno bipolar, quedando una muestra final formada por 38 pacientes todos ellos con diagnóstico de TDM.

Los resultados, por tanto, corresponden a un grupo de 38 pacientes con TDM y un grupo de 38 sujetos controles sanos, que fueron reclutados y sometidos a seguimiento como se describe en el apartado de Material y Métodos.

Las características sociodemográficas analizadas fueron las que se citan con mayor frecuencia en las investigaciones revisadas: “edad”, “sexo” y “situación laboral” (Robins y col., 1991; Weissman y col., 1996; Kessler y col., 1994), además del “estado civil” y “nivel de estudios”.

Los dos grupos resultaron bastante homogéneos en “sexo”, “nivel educativo”, “estado civil”, “edad” y “situación laboral” (**Tabla II**). Los sujetos control fueron más jóvenes que los pacientes con depresión, aunque sin diferencias estadísticamente significativas (test de Mann-Whitney,  $p > 0,8$ ). La situación laboral fue prácticamente la misma, con la excepción del número de estudiantes. Esto quiere decir que las muestras fueron homogéneas y comparables entre si para el propósito de estudio.

En cuanto a las características clínicas de la muestra depresiva (**Tabla III**), se tuvieron en cuenta las siguientes variables: tipo de diagnóstico, tipo de tratamiento psicofarmacológico y puntuaciones totales en la Escala de Depresión de Hamilton (HDRS) (Hamilton, 1960), (ver **Anexo 5**).

Como era previsible, dada la elevada heterogeneidad del síndrome depresivo, dentro de la muestra se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con la historia de episodios depresivos que cada paciente presentaba al inicio del estudio, mientras que un 30% de los sujetos mostraron una historia de episodio único, hasta el 70% presentó un curso recurrente. En relación con el tipo de tratamiento psicofarmacológico, a pesar de su importancia no determinamos el tratamiento recibido por cada paciente, al no tratarse de un ensayo clínico sólo el psiquiatra estableció el tratamiento que consideró más oportuno para cada uno de los casos, por esta razón el tratamiento resultó muy variable dentro de la muestra depresiva, siendo la estrategia más frecuente la combinación farmacológica de antidepresivos y ansiolíticos, muy por

encima de la monoterapia antidepressiva y del resto de combinaciones prescritas (**Tabla III**). Una descripción más detallada del diagnóstico y el tipo de medicación de cada paciente aparece recogida en la **Tabla IV**

Tanto el tipo de diagnóstico (TDM episodio único vs. recidivante) como el tipo de tratamiento psicofarmacológico prescrito a cada paciente fueron dos variables a tener en cuenta en nuestro estudio, a fin de conocer las posibles asociaciones entre ellas y nuestros parámetros de estudio (el análisis se mostrará más adelante).

**Tabla II.** Características socio-demográficas del grupo control y grupo depresivo

	<b>Grupo control</b>	<b>Grupo depresivo</b>	<b>Estadístico (p)</b>
<b>N</b>	38	38	
<b>EDAD</b>	39,03±1,13	42,25±2,42	t(37)= 2,53; p(0,84)
<b>SEXO</b>			
Hombres	17 (45%)	15 (39%)	$\chi^2$ (2)= 1,32; p(0,25)
Mujeres	21 (55%)	23 (61%)	
<b>ESTADO CIVIL</b>			
Soltero	9 (23,7%)	12(28,8%)	$\chi^2$ (8)=7,65; p(0,623)
Casado	26(68,5%)	21(55,3%)	
Separado	1(2,6%)	2(5,3%)	
Divorciado	1(2,6%)	1(5,3%)	
Viudo	1(2,6%)	2(5,3%)	
<b>SIT. LABORAL</b>			
Trabaja	33(86,8%)	32(84,2%)	$\chi^2$ (4)= 5,02; p(0,436)
Estudia	4(10,6%)	1(2,6%)	
No activo	1(2,6%)	5(13,2%)	
<b>ESTUDIOS</b>			
Graduado o menos	17(44,7%)	20(52,6%)	$\chi^2$ (4)= 4,35; p(0,286)
Bachiller	12(28,8%)	12(28,8%)	
Superiores	9(23,7%)	6(18,6%)	

**Tabla III.** Características clínicas de la muestra depresiva

	<b>Grupo depresivo</b>	<b>Estadístico (p)</b>
<b>Diagnóstico TDM</b>		
Episodio único	11 (29%)	$\chi^2$ (1)= 5,02; p(0,04)
Episodio recidivante	27 (71%)	
<b>Tratamiento</b>		
Monoterapia antidepressiva	3 (7,8%)	$\chi^2$ (3)= 38,89; p(0,00)
Combinado AD+ ANS	23 (60,5%)	
Combinado AD + AP	3 (7,8%)	
Combinado AD + EA	9 (23,7%)	
<b>HDRS</b>		
Media±ESM	22,39±0,76	-----

**AD (Antidepressivos); ANS (Ansiolíticos); AP (Antipsicóticos); EA (Estabilizadores del estado de ánimo).**

**Tabla IV.** Descripción del tipo de diagnóstico y terapia psicofarmacológica en la muestra depresiva.

ORDEN	DIAGNÓSTICO (TDM)	TRATAMIENTO
1	Episodio único	Citalopram (AD), Lorazepam (ANS), Flurazepam (ANS)
2	Episodio recidivante	Citalopram (AD), Alprazolam (ANS), Loprazolam (ANS)
3	Episodio recidivante	Halazepam (ANS), Litio (EA), Lormetazepam (ANS)
4	Episodio único	Alprazolam (ANS)
5	Episodio recidivante	Citalopram (AD), Imipramina(AD), Lormetazepam(ANS), Pregabalina (EA)
6	Episodio recidivante	Trazodona(AD),Mianserina(AD), Lorazepam, Ketazolam, Clorazepato(ANS)
7	Episodio único	Citalopram (AD), Lormetazepam (ANS)
8	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Litio (EA)
9	Episodio recidivante	Fluoxetina (AD), Alprazolam (ANS)
10	Episodio recidivante	Imipramina (AD), Lorazepam(ANS), Risperidona (AP)
11	Episodio recidivante	Clonazepam (ANS), Venlafaxina (AD), Ziprasidona (AP)
12	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Oxcarbazepina (EA), Lormetazepam (ANS)
13	Episodio recidivante	Imipramina (AD), Litio (EA), Flunitrazepam (ANS)
14	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Halazepam (ANS), Mianserina (AD)
15	Episodio recidivante	Citalopram (AD), Alprazolam (ANS), Mirtazapina (AD)
16	Episodio recidivante	Duloxetina (AD), Lorazepam (ANS), Pregabalina (EA)
17	Episodio único	Citalopram (AD), Ketazolam (ANS), Reboxetina (AD)
18	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Mirtazapina (AD), Risperidona (AP), Lorazepam (ANS)
19	Episodio recidivante	Sertralina (AD), Ketazolam Flunitrazepam (ANS),Pregabalina (EA)
20	Episodio recidivante	Escitalopram (AD), Mirtazapina (AD)
21	Episodio recidivante	Duloxetina (AD), Litio, Ácido valproico (EA), Ketazolam (ANS)
22	Episodio único	Citalopram (AD), Lorazepam (ANS)
23	Episodio recidivante	Halazepam (ANS), Sertralina (AD)
24	Episodio único	Duloxetina (AD), Brotizolam (ANS)
25	Episodio recidivante	Citalopram (AD), Mirtazapina (AD)
26	Episodio único	Venlafaxina (AD), Ketazolam (ANS), Lorazepam (ANS)
27	Episodio recidivante	Sertralina (AD), Clonazepam (ANS)
28	Episodio único	Bupropión (AD), Lorazepam (ANS)
29	Episodio recidivante	Sertralina (AD), Diazepam+Piridoxina, Loprazolam (ANS)
30	Episodio único	Sertralina (AD), Clorazepato (ANS)
31	Episodio único	Citalopram (AD), Lorazepam (ANS), Zolpidem (ANS)
32	Episodio recidivante	Halazepam (ANS), Sertralina (AD)
33	Episodio recidivante	Citalopram (AD), Trazodona (AD), Halazepam (ANS)
34	Episodio recidivante	Topiramato (EA), Fluoxetina (AD)
35	Episodio recidivante	Sertralina (AD), Halazepam (ANS)
36	Episodio único	Citalopram (AD), Lorazepam (ANS), Brotizolam (ANS)
37	Episodio único	Sertralina (AD), Lorazepam (ANS)
38	Episodio recidivante	Citalopram (AD), Trazodona (AD)

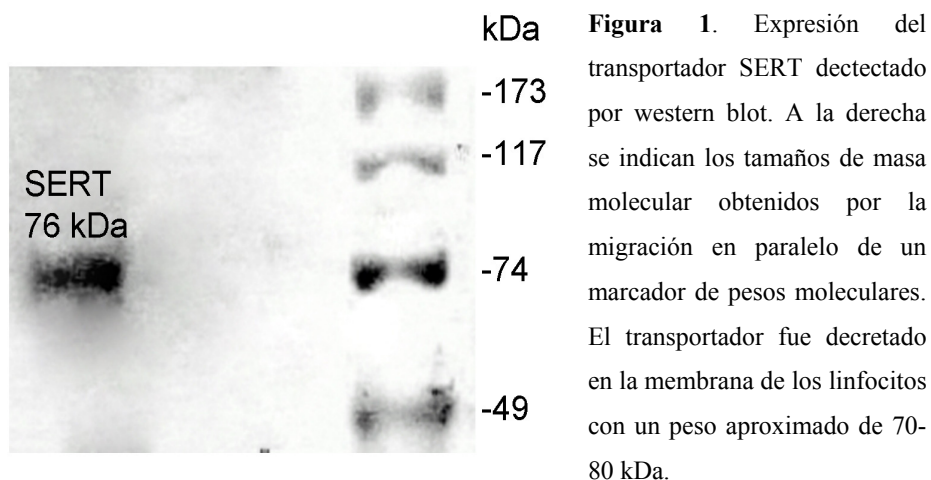
**AD (Antidepresivo); ANS (Ansiolíticos); AP (Antipsicóticos); EA (Estabilizadores del estado de ánimo).**



## 2.2. Estudio de la expresión del transportador SERT en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos.

### 2.2.1. Detección mediante western blot de la expresión proteica del transportador SERT en linfocitos humanos.

La inmunodetección (western blot) permitió corroborar la existencia de la proteína SERT en los linfocitos humanos, así como, disponer de una herramienta segura para el estudio experimental de este transportador. En la imagen que aparece reflejada en la **Figura 1** se observa una banda específica correspondiente al tamaño de la banda detectada en la membrana de los linfocitos, en torno al valor de 70-80 kDa.

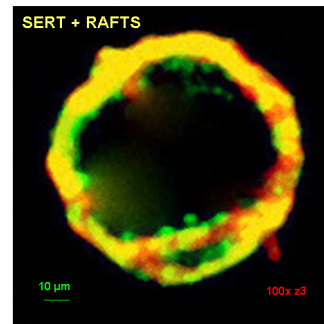


**Figura 1.** Expresión del transportador SERT detectado por western blot. A la derecha se indican los tamaños de masa molecular obtenidos por la migración en paralelo de un marcador de pesos moleculares. El transportador fue detectado en la membrana de los linfocitos con un peso aproximado de 70-80 kDa.

**2.2.2. Doble inmunomarcaje: agrupación de SERT en dominios específicos de membrana.**

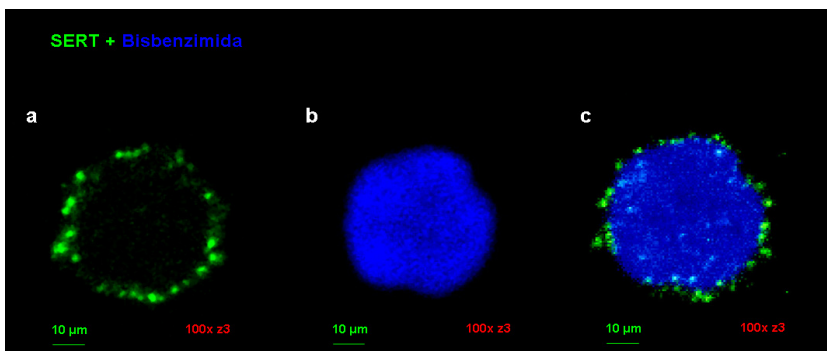
En los linfocitos control, los estudios inmunocitoquímicos dobles para SERT y el marcaje de balsas lipídicas mostraron que la inmunorreactividad para SERT apareció fundamentalmente en estos dominios específicos de membrana, confirmando la localización del transportador en las balsas lipídicas.

**Figura 2.** Sección virtual de microscopía confocal mostrando un marcaje de inmunofluorescencia doble para SERT y balsas lipídicas en linfocitos control. Microfotografía (100X) en las que se muestra colocalización del inmunomarcaje para SERT (verde) y balsas lipídicas (rojo), y la zona de colocalización de ambos marcadores (amarillo).



**2.2.3. Inmunocitoquímica con bisbenzimidida.**

La técnica de presentación de ADN nuclear mediante la coloración fluorescente con bisbenzimidida de Hoechst permitió observar la localización de SERT principalmente en la superficie de la membrana plasmática de los linfocitos.



**Figura 3.** Inmunofluorescencia para SERT y para el ADN nuclear en linfocitos control. (a) Los agrupamientos SERT-positivos (verde) aparecen asociados a la membrana plasmática. (b) La tinción con bisbenzimidida (azul) muestra la tinción del núcleo celular. (c) Superposición de las imágenes (a) y (b).

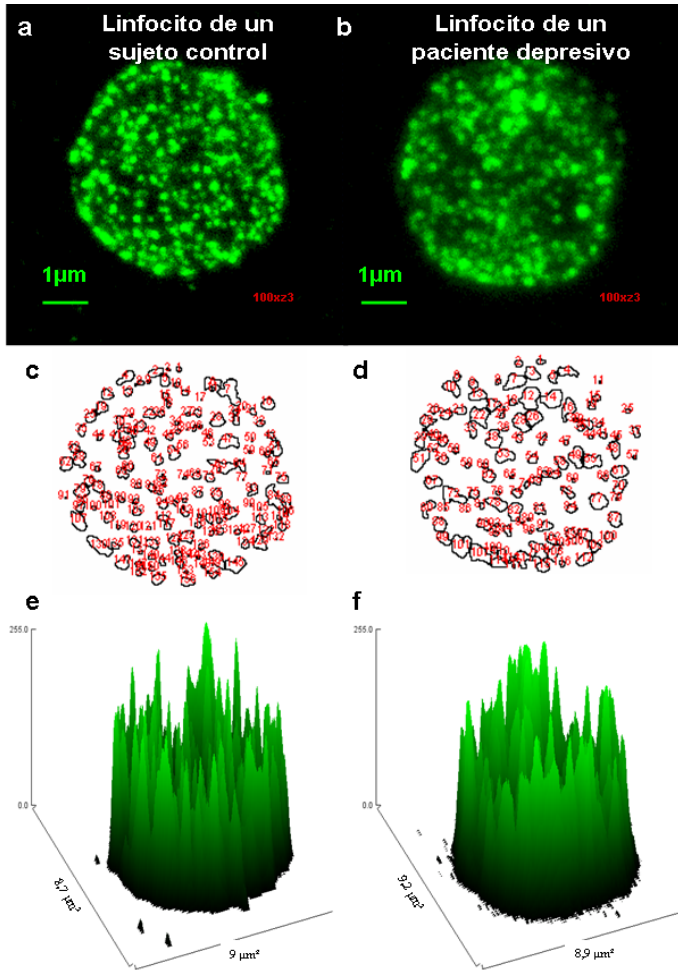
#### 2.2.4. Inmunomarcaje de la agrupación de SERT en linfocitos control y depresivos.

El inmunomarcaje para la agrupación de SERT en el grupo control mostró agrupamientos localizados principalmente en la superficie de la membrana plasmática de prácticamente toda la población de linfocitos. Los agrupamientos aparecen muy bien definidos (**Figura 4a**) con un número medio de agrupamientos por linfocito de  $53,4 \pm 2,2$  y un tamaño medio de  $0,12 \pm 0,002 \mu\text{m}^2$  (**Figura 5a**).

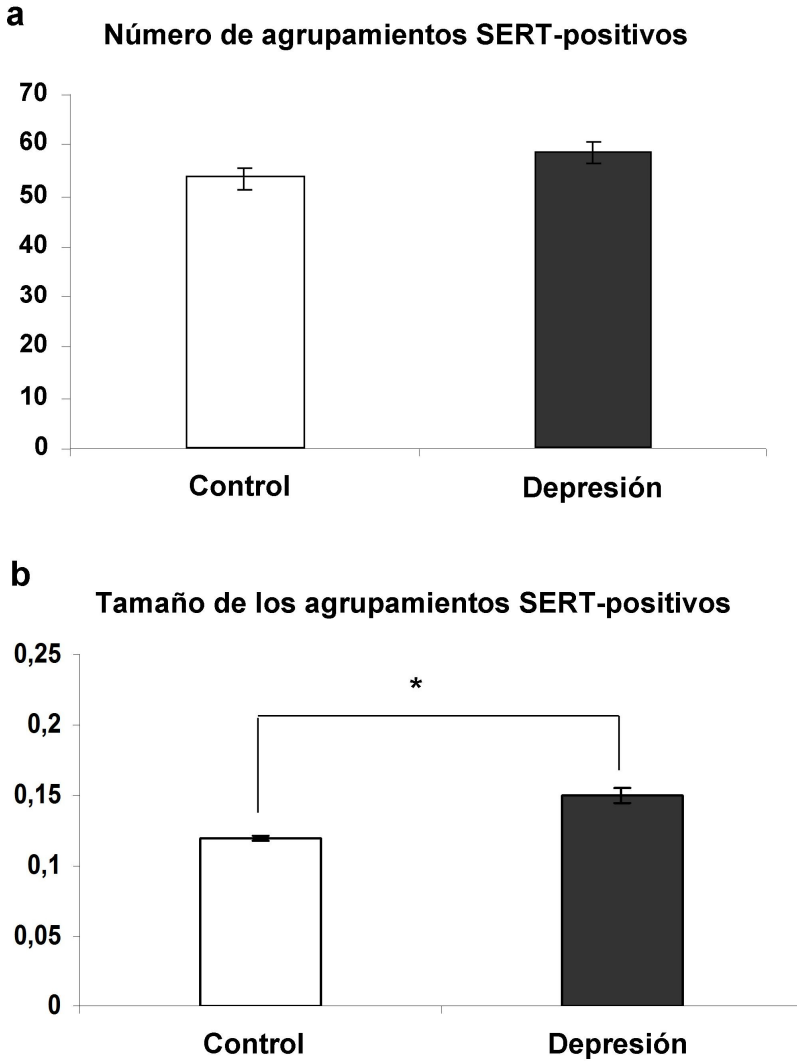
El inmunomarcaje para la agrupación de SERT en linfocitos del grupo depresivo mostró una localización semejante al grupo control, pero apareció asociado a agrupamientos algo más difuminados (**Figura 4b**), con un número medio de agrupamientos por linfocito de  $58,38 \pm 2,4$  y un tamaño medio de  $0,15 \pm 0,007 \mu\text{m}^2$  que en los linfocitos control (**Figura 5b**).

El Test *t* de Student para muestras independientes no indicó un efecto significativo de la presencia del estado depresivo sobre el número medio de agrupamientos SERT-positivos [ $t(74) = 1,19$ ;  $p > 0,24$ ], sin embargo, ese efecto sí tuvo lugar sobre el tamaño medio de los agrupamientos. En el grupo depresivo el tamaño medio fue significativamente mayor que en el grupo control [ $t(74) = 2,47$   $p < 0,02$ ].

Como mencionamos anteriormente, se analizaron las posibles relaciones entre el tipo de diagnóstico (episodio único vs. episodio recidivante) y el tipo de tratamiento con los parámetros biológicos de estudio, % de agrupamientos SERT en el pico modal, número y tamaño de los agrupamientos SERT-positivos, para descartar que variaciones en el diagnóstico y en el tipo de farmacoterapia pudieran estar incidiendo sobre las variaciones de nuestras medidas. La **Tabla V** muestra la ausencia de variaciones significativas en las medidas obtenidas para nuestros parámetros biológicos en relación con el tipo de diagnóstico y la **Tabla VI** muestra que no hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros biológicos en relación con el tipo de tratamiento psicofarmacológico (antes del inicio del tratamiento).



**Figura 4.** Inmunofluorescencia para el transportador de serotonina, SERT, en linfocitos humanos. Las figuras **a** y **b** muestran linfocitos inmunomarcados para SERT, los agrupamientos SERT-positivos aparecen asociados principalmente con la membrana plasmática, aunque algunos grupos SERT pueden corresponder a las membranas de las vesículas intracitoplasmáticas: (**a**) linfocito de un sujeto control, agrupamientos claramente definidos; (**b**) linfocito de un paciente depresivo, agrupamientos un poco más difuminados. Las figuras **c** y **d** muestran el análisis del número y tamaño de los agrupamientos SERT en los linfocitos de las figuras **a** y **b**, respectivamente. Las figuras **e** y **f** representan los gráficos de superficie de las figuras **a** y **b**, mostrando la intensidad de la inmunofluorescencia del marcaje SERT en los linfocitos.



**Figura 5.** Efecto del estado depresivo sobre el número (a) y el tamaño (b) de los agrupamientos SERT-positivos en linfocitos. El tamaño de los agrupamientos SERT aumenta significativamente (\*) en los pacientes depresivos con respecto al grupo control. Los datos se representan como medias±ESM.

**Tabla V.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de diagnóstico (antes del tratamiento).

	<b>Número de agrupamientos SERT-positivos</b>	<b>Tamaño de los agrupamientos SERT-positivos</b>
<b>Episodio único</b>	54,82±2,55	0,16±0,02
<b>Episodio recidivante</b>	60,02±2,99	0,15±0,08
<b>Test t de Student</b>	<b>t(0,538); p&gt;0,594</b>	<b>t(-1,092); p&gt;0,282</b>

**Tabla VI.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de tratamiento psicofarmacológico (antes del tratamiento).

	<b>Número de agrupamientos SERT-positivos</b>	<b>Tamaño de los agrupamientos SERT-positivos</b>
<b>Monoterapia antidepressiva</b>	47,29±1,6	0,13±0,01
<b>Antidepressivo + Ansiolítico (AD+ANS)</b>	55,88±2,6	0,16±0,01
<b>Antidepressivo + Antipsicótico (AD+AP)</b>	70,32±6,5	0,15±0,01
<b>Antidepressivo + Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	66,88±6,4	0,14±0,01
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(2,388); p&gt;0,1</b>	<b>F(0,493); p&gt;0,690</b>

### **2.2.5. Distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos en linfocitos de individuos control y pacientes no tratados.**

La representación gráfica de la distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos mostró un pico modal entre 0,05-0,10  $\mu\text{m}^2$  en ambos grupos, control y depresivo. Este pico indica la existencia de una distribución unimodal sesgada, representada en todos los individuos control y en la gran mayoría de los individuos depresivos por más del 40% del número total de agrupamientos (**Figuras 6a, 6b y 6c**).

Sin embargo, a pesar de que la mayor parte de los pacientes (sobre el 80% del total de la población depresiva) mostraron ese pico modal en el intervalo 0,05-0,10  $\mu\text{m}^2$  representado por el 40% de sus agrupamientos, un grupo reducido de pacientes (el 20% aproximadamente) no alcanzó un porcentaje superior al 30% en el intervalo modal (**Figura 6d**), dando lugar a una distribución bimodal de la población depresiva en relación con el porcentaje de agrupamientos en el pico modal. Este hecho, llevó a plantearnos la posible existencia de dos subgrupos diferentes de pacientes depresivos: Depresión-I (D-I) y Depresión-II (D-II), de acuerdo con las diferencias en el porcentaje de agrupamientos SERT-positivos en el pico modal que presentó cada paciente. Incluyendo a los pacientes con un pico modal superior al 40% en el subgrupo D-I y a los pacientes con un pico modal por debajo del 35% en el subgrupo D-II (un poco por debajo del 40% para poder discriminarlo adecuadamente del grupo control, a fin de determinar si estas diferencias se correlacionaban con algunas características clínicas (**Figuras 6e y 6f**).

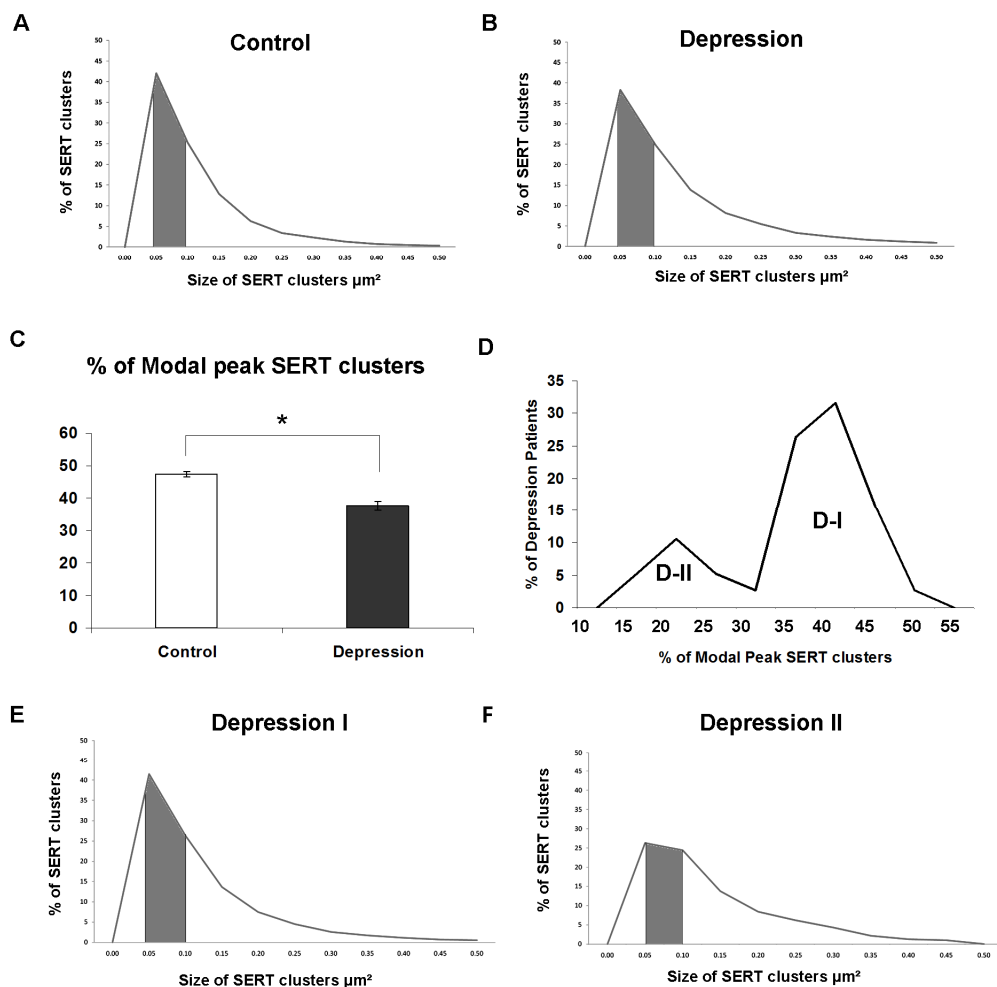
### **2.2.6. Subgrupos depresivos D-I y D-II: análisis de las diferencias en la agrupación de SERT en linfocitos de pacientes no tratados.**

El análisis de los parámetros biológicos (% de agrupamientos SERT en el pico modal, número y tamaño medio de los agrupamientos SERT-positivos) en los subgrupos D-I y D-II y en la población control (C), mediante el análisis de la varianza con la prueba Anova de una cola, reveló un efecto estadísticamente significativo del “subgrupo depresivo” (D-I o D-II) sobre el % de agrupamientos SERT en el pico modal [ $F(2)=96,850$ ;  $p<0,001$ ], el número medio de agrupamientos SERT-positivos [ $F(2)=2,943$ ;  $p<0,05$ ] y sobre el tamaño medio de los agrupamientos [ $F(2)=11,62$ ;  $p<0,001$ ].

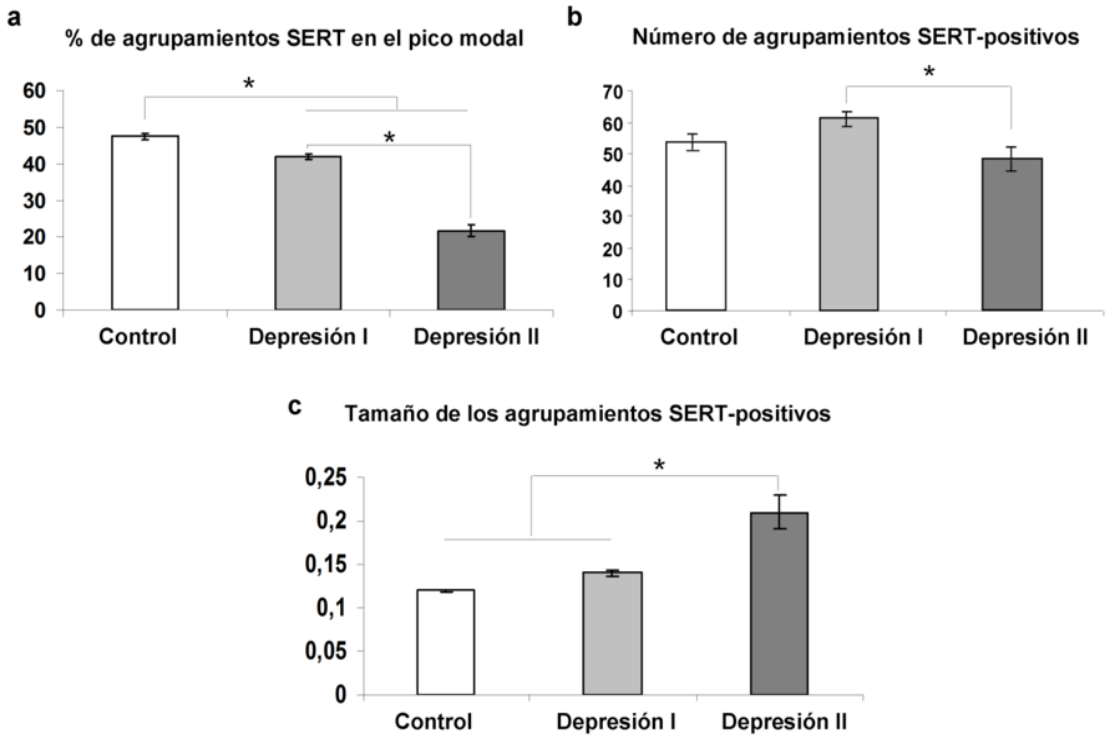
Para el análisis de comparaciones múltiples se utilizó la corrección de Bonferroni. Este análisis post hoc mostró en primer lugar que, el % de agrupamientos SERT en el pico modal fue

estadísticamente superior en el grupo control ( $47,47 \pm 0,83$ ) que en el subgrupo D-I ( $41,91 \pm 0,73$ ) [ $p < 0,001$ ] y el subgrupo D-II ( $21,58 \pm 1,62$ ) [ $p < 0,001$ ] y, además, que en el subgrupo D-I fue significativamente superior que en D-II [ $p < 0,001$ ] (**Figura 7a**). En segundo lugar, que el número medio de agrupamientos en el subgrupo D-I ( $61,07 \pm 2,4$ ) fue similar al de la población control ( $53,4 \pm 2,2$ ) [ $p > 0,5$ ] pero mucho mayor que el del subgrupo D-II ( $48,28 \pm 3,5$ ) [ $p < 0,05$ ] (**Figura 7b**), y por último, que el tamaño medio de los agrupamientos en D-I ( $0,14 \pm 0,004$ ) también fue similar al del grupo control ( $0,12 \pm 0,002$ ) [ $p > 0,9$ ], pero mucho más pequeño que el del subgrupo D-II ( $0,21 \pm 0,02$ ) [ $p < 0,001$ ] (**Figura 7c**).





**Figura 6.** Representación gráfica de la distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos en la población control (a) y en la población depresiva total (b). Ambos grupos muestran un pico modal entre 0,05-0,10  $\mu\text{m}^2$  (banda gris oscura) representado por más del 40% de los agrupamientos (c). Sin embargo, algunos pacientes de la población depresiva total (el 20% aproximadamente) mostraron un pico modal representado sólo por el 20-25% de sus agrupamientos, dando lugar a una distribución bimodal en relación con el porcentaje de agrupamientos SERT-positivos que cada paciente presentó en el pico modal (d). De este modo, en la población depresiva se diferenciaron dos subgrupos de pacientes, Depresión I (e) formado por los pacientes que mostraron un pico modal del 40% en el intervalo de tamaño entre 0,05-0,10  $\mu\text{m}^2$  y Depresión II (f) con los pacientes que no alcanzaron un pico modal superior al 35% en el intervalo 0,05-0,10  $\mu\text{m}^2$ .



**Figura 7.** Efecto del estado depresivo sobre el % de agrupamientos en el pico modal (**a**), el número (**b**) y el tamaño (**c**) de los agrupamientos SERT-positivos en la población control y en los subgrupos depresivos D-I y D-II. El % de agrupamientos de SERT en el pico modal es significativamente (\*) mayor en el grupo control que en los subgrupos D-I y D-II y, también, significativamente (\*) mayor en el subgrupo D-I que en el subgrupo D-II. El número de agrupamientos es significativamente (\*) mayor en el subgrupo D-I que el subgrupo D-II, pero el tamaño de los agrupamientos es significativamente (\*) más grande en D-II con respecto a la población control y D-I, que no muestran diferencias significativas entre sí ni en el número ni en el tamaño de sus agrupaciones. Los datos se representan en medias grupales  $\pm$  ESM.

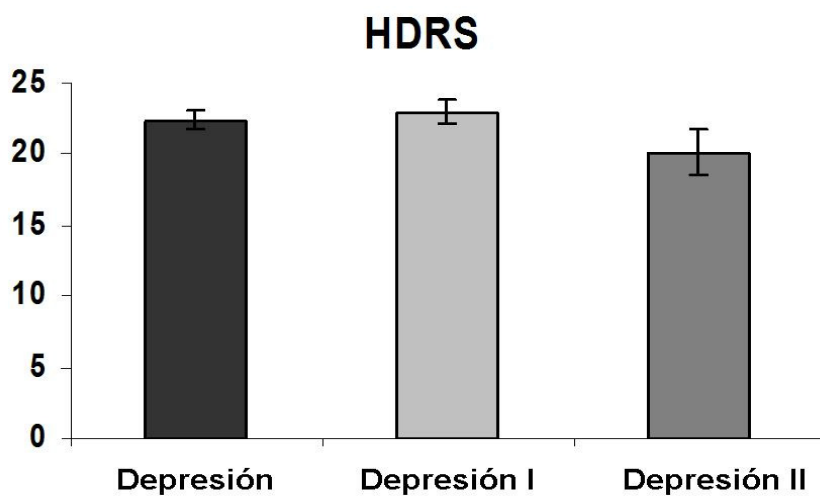
### 2.3. Estudio de las puntuaciones clínicas de la escala HDRS en pacientes depresivos.

#### 2.3.1. Subgrupos D-I y D-II: análisis de las diferencias en las escala de depresión HDRS en pacientes no tratados.

Respecto al análisis de los parámetros clínicos, las puntuaciones medias totales en la escala de depresión HDRS fueron: (22,39±0,76), (23±0,84) y (20,13±1,6) para DT y los subgrupos D-I y D-II, respectivamente (**Figura 8**). De nuevo se aplicó la prueba estadística Anova de una cola y los resultados mostraron que, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos en la escala HDRS, [F(2)=1,295; p>0,3].

Por otro lado, la puntuación total de cada paciente en la escala HDRS fue la variable clínica central en este estudio, sirviendo de medida de depresión y, por tanto, permitiendo establecer posibles correlaciones con las variaciones en los parámetros biológicos. Por esa razón, como en el apartado referido a los parámetros biológicos, se analizó la relación entre el tipo de diagnóstico y el tipo de tratamiento con las puntuaciones totales en la escala HDRS para descartar que las puntuaciones de los pacientes en la escala no fueran motivadas por el su diagnóstico o tratamiento.

En primer lugar, se analizó si las puntuaciones totales de la escala HDRS (antes del tratamiento) mostraron diferencias estadísticamente significativas en relación con el tipo de diagnóstico depresivo, la **Tabla VII** indica que las puntuaciones no mostraron variaciones en relación con el diagnóstico recibido por el paciente, y en segundo lugar, la posible relación entre las puntuaciones totales de HDRS con el tipo de tratamiento psicofarmacológico prescrito, la **Tabla VIII** indica que no hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en las puntuaciones totales debido al tipo de tratamiento.



**Figura 8.** Puntuaciones totales en la Escala de Depresión de Hamilton para la población depresiva total y para los subgrupos depresivos D-I y D-II antes del inicio del tratamiento psicofarmacológico. La figura muestra la ausencia de diferencias significativas entre D-I y D-II. Los datos se representan en medias grupales  $\pm$  ESM.

**Tabla VII.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de diagnóstico (antes del tratamiento).

	HDRS
<b>Episodio único</b>	21,92±1,17
<b>Episodio recidivante</b>	22,65±1,02
<b>Test <i>t</i> de Student</b>	<b>t(-0,442); p&gt;0,658</b>

**Tabla VIII.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de tratamiento psicofarmacológico (antes del tratamiento)

	HDRS
<b>Monoterapia antidepressiva</b>	22±0,001
<b>Antidepressivo+Ansiolítico (AD+ANS)</b>	22,79±0,85
<b>Antidepressivo+Antipsicótico (AD+AP)</b>	21±2,04
<b>Antidepressivo+Estabilizador del estado de ánimo(AD+EA)</b>	23,3±2,84
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(0,160); p&gt;0,922</b>

**2.3.2. Correlaciones entre HDRS y los parámetros biológicos en los individuos depresivos no tratados.**

Las correlaciones entre los parámetros clínicos (puntuaciones en la escala HDRS) y los parámetros biológicos (número y tamaño medio de los agrupamientos), aplicando la *correlación de Pearson*, no revelaron ninguna asociación significativa entre las puntuaciones en la escala clínica y los parámetros biológicos para ninguno de los grupos de estudio en pacientes depresivos no tratados.

**Tabla IX.** Correlaciones entre los parámetros clínicos y biológicos, antes del tratamiento.

		<b>HDRS</b>		
		<b>Depresión</b>	<b>Depresión I</b>	<b>Depresión II</b>
<b>Número de agrupamientos</b>	Correlación de Pearson	0,017	- 0,235	- 0,577
<b>SERT-positivos</b>	Sig. (bilateral)	0,921	0,212	0,134
<b>Tamaño de los agrupamientos</b>	Correlación de Pearson	- 0,211	0,144	0,148
<b>SERT-positivos</b>	Sig. (bilateral)	0,211	0,448	0,726

\*La correlación es significativa para  $p < 0,05$  (bilateral)

\*\*La correlación es significativa para  $p < 0,01$  (bilateral)

**2.3.3. Subgrupos D-I y D-II: análisis de las diferencias en las escala de depresión HDRS después del tratamiento.**

Las puntuaciones en la escala de depresión HDRS tras 8 semanas de tratamiento se vieron disminuidas significativamente en los tres grupos depresivos. La mejora en las puntuaciones medias totales ( $10,95 \pm 1,03$ ) para la población depresiva total, ( $12,17 \pm 1,2$ ) para el subgrupo D-I y ( $6,25 \pm 1,55$ ) para el subgrupo D-II, apuntó a un efecto significativo del tratamiento sobre el índice de depresión, que se confirmó mediante el Test *t* de Student para muestras relacionadas: [ $t(37)=12,96$ ;  $p<0,001$ ] para DT; [ $t(29)=11,54$ ;  $p<0,001$ ] para D-I y [ $t(7)= 6,18$ ;  $p<0,001$ ] para D-II (**Figura 9a**).

El análisis de las diferencias intergrupales, mostró que el efecto del tratamiento no fue semejante sobre las tres muestras, con un Anova de una cola igual a [ $F(2)=2,979$ ;  $p<0,05$ ], y el posterior test de Bonferroni se observó que no hubo diferencias entre la población depresiva total y el subgrupo D-I [ $p>0,09$ ] o D-II [ $p>0,16$ ], pero que si hubo diferencias significativas entre los subgrupos D-I y D-II [ $p<0,05$ ].

La puntuación media total en la escala HDRS se redujo en un 50% para la población depresiva total (con una diferencia de medias de 11,44), en un 47% para el subgrupo D-I (diferencia de medias de 10,83) y llegó hasta un 70% para el subgrupo D-II (diferencia de medias de 13,88). Curiosamente, a pesar de que todos los grupos mostraron una respuesta al tratamiento psicofarmacológico, la mayor diferencia de medias para el subgrupo D-II y un puntaje en la HDRS inferior a 7 ( $6,25$ ), indicó que en este grupo tuvo lugar una remisión de los síntomas depresivos (ver Discusión) (**Figura 9b**).

Del mismo, que antes al inicio del tratamiento, se analizaron de nuevo las diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS en relación con el tipo de diagnóstico depresivo y el tipo de tratamiento psicofarmacológico para descartar variaciones en las puntuaciones totales de la escala en relación con ambas variables, considerando el tiempo de tratamiento (antes y después). La **Tabla X** indica que hubo un efecto claro del tratamiento (diferencias antes-después)  $p<0,001$ , pero que no hubo diferencias según el tipo de diagnóstico (episodio único vs. recidivante)  $p>0,5$ , las puntuaciones totales en la escala HDRS son semejantes entre los tipos de diagnóstico antes y después del tratamiento, disminuyendo las puntuaciones HDRS en ambos casos. La **Tabla XI** muestra que hubo un efecto claro del tratamiento (diferencias antes-después)  $p<0,000$ , pero independientemente del tipo de fármacos utilizados  $p>0,383$ .

**Tabla X.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de diagnóstico y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>HDRS</b>		
	<b>Naïve</b>	<b>Tratamiento</b>	
<b>Episodio único</b>	22,77±1,17	12,16±1,11	
<b>Episodio recidivante</b>	22,31±1,02	10,38±1,37	
<b>Prueba F de ANOVA de dos vías</b>	<i>Diagnóstico</i>		<b>F(0,445);p&gt;0,507</b>
	<i>Tiempo</i>		<b>F(24,34);p&lt;0,000</b>
	<i>Diagnóstico* Tiempo</i>		<b>F(0,706);p&gt;0,404</b>

**Tabla XI.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de tratamiento y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>HDRS</b>		
	<b>Naïve</b>	<b>Tratamiento</b>	
<b>Monoterapia antidepresiva Antidepresivo</b>	22±0,001	3,5±0,5	
<b>+ Ansiolítico (AD+ANS) Antidepresivo</b>	22,79±0,85	11,68±1,26	
<b>+ Antipsicótico (AD+AP) Antidepresivo</b>	21±2,04	9,49±1,73	
<b>+ Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	23,3±2,84	11,66±2,94	
<b>Prueba F de ANOVA de dos vías</b>	<i>Tratamiento</i>		<b>F(1,036);p&gt;0,383</b>
	<i>Tiempo</i>		<b>F(43,28);p&lt;0,000</b>
	<i>Tratamiento * Tiempo</i>		<b>F(0,563);p&gt;0,641</b>



#### 2.4. *Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento.*

El efecto del tratamiento psicofarmacológico resultó estadísticamente significativo sobre el % de agrupamientos de SERT en el intervalo modal [ $t(37) = -3,544$ ;  $p < 0,001$ ], pero no sobre el número [ $t(37) = 0,534$ ;  $p > 0,59$ ] y el tamaño medio de los agrupamientos de SERT [ $t(37) = 1,771$ ;  $p > 0,09$ ] en la población depresiva total. En el subgrupo depresivo D-I también se observaron cambios estadísticamente significativos en el % de agrupamientos de SERT en el intervalo modal [ $t(29) = -2,225$ ;  $p < 0,03$ ], pero no en el número de agrupamientos [ $t(29) = 1,720$ ;  $p > 0,1$ ] ni en el tamaño de los agrupamientos [ $t(29) = 4,015$ ;  $p > 0,09$ ] debido al tratamiento. Sin embargo, en el subgrupo D-II el efecto del tratamiento no incidió sobre el tamaño de los agrupamientos [ $t(7) = 0,525$ ;  $p > 0,69$ ] pero sí en el % de agrupamientos de SERT en el intervalo modal [ $t(7) = -3,857$ ;  $p > 0,001$ ], con un incremento del 15%, y en su número [ $t(7) = -1,947$ ;  $p < 0,04$ ], con un incremento del 27% (**Figuras 10 a, b y c**).

En cuanto a las diferencias intergrupales, después del tratamiento el % de agrupamientos de SERT en el intervalo modal continuó siendo significativamente inferior en D-II que en la población depresiva total [ $p < 0,001$ ] y D-I [ $p < 0,001$ ], a pesar del incremento del 15% observado. El número medio de agrupamientos fue similar entre la población depresiva total, D-I y D-II [ $F(2) = 0,525$ ;  $p > 0,59$ ], al contrario de lo que ocurría antes del tratamiento donde la media para D-II era significativamente inferior (**Figura 7b**). Desaparecen las diferencias entre los tres grupos en el número de agrupamientos lo que indica que el tratamiento tuvo un efecto semejante en todos ellos y, además, los tres grupos tienen un número de agrupamientos similar a la población control. En el tamaño medio de los agrupamientos el tratamiento, sin embargo, no tuvo el mismo efecto sobre los tres grupos [ $F(2) = 14,46$ ,  $p < 0,001$ ], mientras el tamaño medio se redujo en la población depresiva total y en D-I (aunque la reducción no llegara a ser significativa como se indicó en el párrafo anterior), en D-II no tuvo lugar ningún cambio, el tamaño medio de los agrupamientos continuó siendo mayor respecto a la población total y a D-I. En la población depresiva total y en D-I desaparecen las diferencias respecto al grupo control después del tratamiento (**Figuras 10 d, e y f**).

Las Tablas **XII** y **XIII** indican que no hubo diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de diagnóstico o el tipo de tratamiento recibidos, ni antes ni después del tratamiento. Asimismo, no hubo variaciones significativas en los parámetros biológicos en relación con el tiempo de tratamiento. Como indicamos al inicio de este punto (2.4), el tratamiento sólo tuvo efecto sobre el número medio de agrupamientos en el subgrupo D-II y al tratarse de un grupo muy reducido no se refleja en el análisis estadístico, aplicado a la población depresiva total.

**Tabla XII.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de diagnóstico y el tiempo de tratamiento (antes y después).

		Número de agrupamientos SERT-positivos		Tamaño de los agrupamientos SERT-positivos	
		Naïve	Tratamiento	Naïve	Tratamiento
	<b>Episodio único</b>	54,82±2,55	51,83±5,2	0,16±0,02	0,15±0,02
	<b>Episodio recidivante</b>	60,02±2,99	58,44±2,95	0,15±0,08	0,14±0,01
<b>ANOVA de dos vías</b>	<i>Diagnóstico</i>	<b>F(2,516); p&gt;0,117</b>		<b>F(1,580); p&gt;0,213</b>	
	<i>Tiempo</i>	<b>F(0,277); p&gt;0,600</b>		<b>F(1,182); p&gt;0,281</b>	
	<i>Diagnóstico * Tiempo</i>	<b>F(0,014); p&gt;0,906</b>		<b>F(0,012); p&gt;0,913</b>	

**Tabla XIII.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de tratamiento y el tiempo de tratamiento (antes y después)

		Número de agrupamientos SERT-positivos		Tamaño de los agrupamientos SERT-positivos	
		Naïve	Tratamiento	Naïve	Tratamiento
	<b>Monoterapia antidepressiva</b>	47,29±1,6	56,00±14,4	0,13±0,01	0,12±0,01
	<b>Antidepressivo + Ansiolítico (AD+ANS)</b>	55,88±2,6	55,92±3,15	0,16±0,01	0,15±0,01
	<b>Antidepressivo + Antipsicótico (AD+AP)</b>	70,32±6,5	69,41±5,21	0,15±0,01	0,15±0,02
	<b>Antidepressivo + Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	66,88±6,4	53,29±6,49	0,14±0,01	0,13±0,05
<b>ANOVA de dos vías</b>	<i>Tratamiento</i>	<b>F(2,002); p&gt;0,123</b>		<b>F(1,068); p&gt;0,369</b>	
	<i>Tiempo</i>	<b>F(0,076); p&gt;0,784</b>		<b>F(0,238); p&gt;0,627</b>	
	<i>Tratamiento * Tiempo</i>	<b>F(0,905); p&gt;0,444</b>		<b>F(0,120); p&gt;0,948</b>	

**2.4.1. Correlaciones entre HDRS y los parámetros biológicos después del tratamiento.**

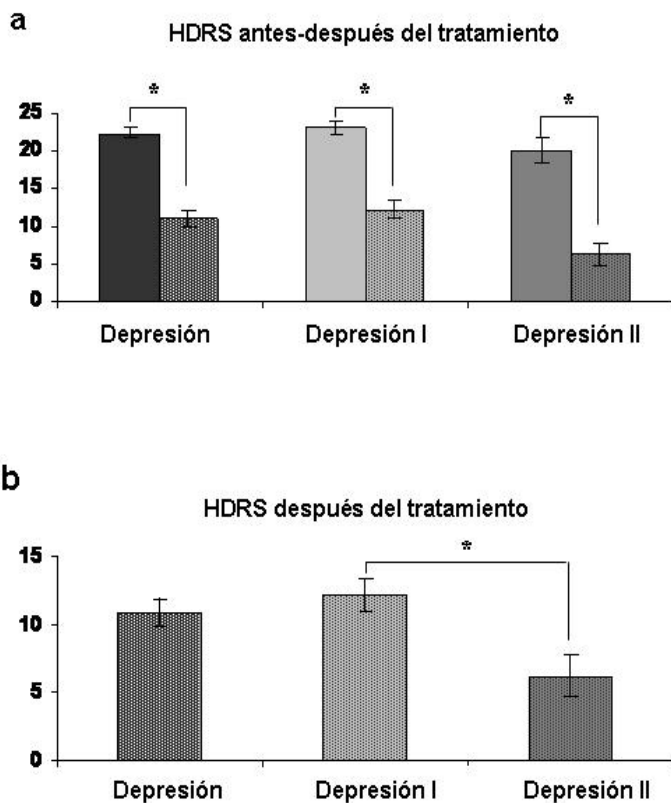
Después del tratamiento el análisis de correlaciones indicó que un mayor número de agrupamientos de SERT correlacionaba con un mejor resultado clínico. Al comparar el grado de mejoría clínica con el grado de agrupamiento de SERT se observó una correlación significativa entre las diferencias en el número de agrupamientos, antes y después del tratamiento, y las diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS en el subgrupo D-II [R=- 0,761; p<0,03]. Sin embargo, esas correlaciones no se observaron ni en la población depresiva total ni en D-I, lo que puede deberse a la ausencia de alteraciones en el número de agrupamientos debidas al tratamiento (**ver punto 2.2.7, Figura 7a**) que si tuvieron lugar en el subgrupo D-II. En todos los grupos existe una mejoría en las puntuaciones de HDRS pero sólo en D-II el tratamiento afecta al número de agrupamientos, aumentándolo significativamente.

**Tabla XIV.** Correlaciones entre los parámetros clínicos y biológicos, después del tratamiento.

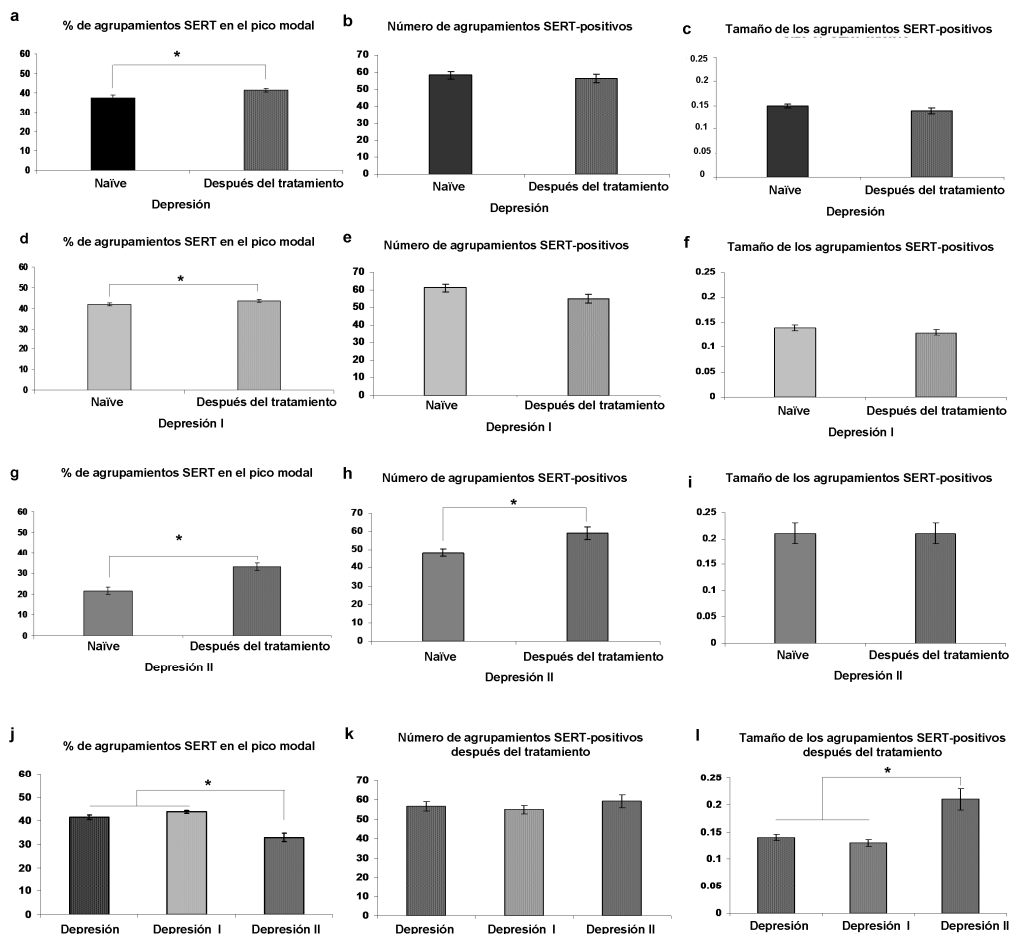
		HDRS		
		Depresión	Depresión I	Depresión II
<b>Número de agrupamientos SERT-positivos</b>	Correlación de Pearson	-0,127	-0,125	0,761*
	Sig. (bilateral)	0,449	0,511	0,03
<b>Tamaño de los agrupamientos SERT-positivos</b>	Correlación de Pearson	-0,058	-0,384*	-0,101
	Sig. (bilateral)	0,73	0,04	0,813

\*La correlación es significativa para p<0,05 (bilateral)

\*\*La correlación es significativa para p<0,01 (bilateral)



**Figura 9.** Efecto del tratamiento psicofarmacológico sobre las puntuaciones totales de la escala HDRS en la población depresión total y en los subgrupos D-I y D-II. Tras ocho semanas de tratamiento se observa una disminución estadísticamente significativa (\*) de las puntuaciones totales en la escala HDRS para los tres grupos de estudio que aparece reflejada en el análisis comparativo intragrupal (**a**). La disminución en la puntuación total fue mayor para el subgrupo D-II que para la población depresiva total y el subgrupo D-I, con una reducción significativamente (\*) mayor en D-II respecto a D-I (**b**). Los datos se expresan en medias grupales±ESM.



**Figura 10.** Representación gráfica de los cambios en el % de agrupamientos SERT en el pico modal, número y tamaño de los agrupamientos SERT-positivos. Se observa que hubo un incremento estadísticamente significativo (\*) en el % de agrupamientos modal en la población depresiva total y en los subgrupos D-I y D-II (**a, d, g**), pero el subgrupo D-II continúa sin alcanzar un % próximo al 40% como el de D-I, las diferencias entre los subgrupos son significativas (\*) (**j**). El número y el tamaño de los agrupamientos para la población depresiva total (**b, c**) y el subgrupo D-I (**e, f**) no mostraron cambios significativos, pero sí existe un aumento significativo (\*) en el número de agrupamientos en el subgrupo D-II (**h**) tras ocho semanas de tratamiento aunque sin cambios en sus tamaños (**i**). Las figuras (**k**) e (**l**) comparan el número y el tamaño de los agrupamientos entre la muestra depresiva total y los subgrupos D-I y D-II después del tratamiento. Téngase en cuenta que no hay diferencias significativas entre estos los subgrupos D-I y D-II en el número de agrupamientos, diferencia que si existía antes del tratamiento (ver **Figura 7b**) y que el tamaño de los agrupamientos sigue siendo significativamente mayor para D-II que para D-I como ocurría antes del tratamiento (ver **Figura 7c**).

### C. Discusión

En este estudio hemos presentado un conjunto de datos que permite proponer el análisis de la agrupación de SERT en linfocitos como un posible biomarcador de eficacia terapéutica en el trastorno depresivo mayor, así como, un posible evento importante en la fisiopatología de la depresión que puede revertir junto con el comportamiento depresivo tras la administración del tratamiento antidepressivo.

Como vimos en el capítulo anterior, en los ratones homocigotos reeler ( $Reln^{-/-}$ ), que no muestran niveles detectables de reelina en el plasma sanguíneo, se produjo una alteración en el agrupamiento de SERT en linfocitos que comprometía el proceso de recaptación de serotonina y que, por tanto, condicionaba el desarrollo del trastorno depresivo entre cuyas causas se encuentra el funcionamiento anormal del sistema serotoninérgico. Si esta alteración tuvo lugar en ratones  $Reln^{-/-}$  y teniendo en cuenta la participación patológica de la reelina en diversos trastornos neuropsiquiátricos como en la esquizofrenia y el trastorno bipolar (Guidotti, 2000) o en el trastorno depresivo mayor (Fatemi y col., 2001a) cabía esperar que una alteración semejante tuviera lugar en pacientes con trastorno depresivo mayor.

Nuestros resultados confirman que el transportador SERT se expresa en la membrana de los linfocitos, y que presenta un tamaño molecular coincidente con el ya descrito en otros tejidos como en cerebro de rata, detectado con un tamaño de 76 kDa (Quian y col., 1995), o en cerebro humano inmunodetectado en una banda correspondiente al tamaño de 76 kDa (Rammamorthy y col., 1998). De este modo podemos confirmar que el inmunomarcaje que realizamos realmente está discriminando los agrupamientos SERT-positivos en linfocitos humanos. El marcaje de la agrupación de SERT en la membrana plástica fue persistente en los linfocitos de los sujetos control y de los pacientes con estado depresivo, principalmente en la superficie de la membrana celular. Sin embargo, el marcaje SERT-positivo resultó ser más definido y nítido en el grupo control y más difuso y disperso dentro de la superficie celular en el grupo depresivo. En las imágenes de superficie, la intensidad de inmunofluorescencia es menor en el grupo depresivo y con agrupamientos de mayor tamaño que tienden a expandirse, con respecto a la población control. Con el análisis estadístico se comprobó que, si bien no hubo diferencias significativas en el número de agrupamientos, el tamaño sí resultó significativamente mayor en los pacientes con trastorno depresivo. Estudios previos han demostrado que en el trastorno depresivo mayor existe una reducción en el número de SERT en linfocitos (Lima y Urbina, 2002), así como, una disminución en el ARNm que codifica para el mismo (Lima y Urbina, 2005), y que el tratamiento con fluoxetina (Urbina y col., 1999) o mirtazapina (Peña y col., 2005) lo

incrementan. Además, Magnani y col. han observado que existe una presencia diferencial de SERT en determinadas subpoblaciones de linfocitos T que ocurre de manera similar en el sistema nervioso central y que estaría relacionada con las funciones focalizadas de la serotonina en las diferentes células del sistema inmunológico (Fazzino y col.,2008) Por otro lado, la dispersión de los agrupamientos de SERT presente en los sujetos depresivos podría estar relacionada con la disminución de la reelina en el plasma sanguíneo y que se sabe provoca cambios en el agrupamiento de SERT en dominios de balsas lipídicas que es esencial para su funcionamiento (Magnani y col., 2004).

En las gráficas de distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos, en el grupo control, se observa de nuevo una sola población de tamaño entre 0,05 y 0,10 $\mu\text{m}^2$  representada por más del 40% de los agrupamientos, mientras que en el grupo depresivo una parte importante muestra ese mismo pico modal del 40% pero algunos pacientes no llegan al 35% y tienen un sesgo importante hacia tamaños mayores. La distribución refleja la diferencia en el tamaño de los agrupamientos que parece diferenciar a los sujetos control y los pacientes depresivos y que, además, permite distinguir entre dos posibles subgrupos de pacientes: D-I (con un pico modal del 40% igual al control) y D-II (con un pico modal inferior al 35% entre 0,05 y 0,10  $\mu\text{m}^2$ ) a nivel biológico.

Quedaba por comprobar si la diferencia de los posibles subgrupos depresivos (D-I y D-II) en relación con los parámetros biológicos también representaría dos subpoblaciones clínicas diferentes de depresión. Las puntuaciones medias totales en la Escala de Depresión de Hamilton no mostraron diferencias significativas entre la población depresiva total, D-I y D-II. Y no se describieron correlaciones significativas entre los parámetros biológicos y el índice de depresión antes del inicio del tratamiento. Se comprobó, además, que tanto los parámetros biológicos como clínicos no mostraran variaciones asociadas al tipo de diagnóstico (episodio único vs. recidivante) o al tipo de tratamiento antidepressivo recibido por cada paciente. En ambos casos no existieron asociaciones significativas y se descartó que nuestras medidas estuvieran asociadas con estas variables. Por tanto, la alteración observada en el número y tamaño de la agrupación de SERT no serviría como buen predictor de diagnóstico clínico.

Otra posibilidad es que estas alteraciones biológicas pudieran servir como marcador de eficacia terapéutica. Los resultados tras ocho semanas de tratamiento indicaron que en la población depresiva total y en el subgrupo D-I no hubo un efecto significativo de la terapia psicofarmacológica sobre el número y el tamaño de los agrupamientos SERT-positivos. En la población total el número de agrupamientos se mantiene semejante al del grupo control y con un tamaño mayor, como antes del tratamiento, sin embargo la diferencia en el tamaño ya no es

estadísticamente significativa. En el subgrupo D-I el número y tamaño de los agrupamientos continuó siendo similar al de los sujetos control y en el subgrupo D-II el tratamiento si tuvo un efecto significativo sobre el número medio de agrupamientos, con un incremento del 27%, aunque el tamaño medio no varió siendo muy superior al del grupo control como al inicio del estudio. Cabe señalar que en la muestra depresiva total no se observó una disminución significativa del tamaño de sus grupos SERT-positivos tras el tratamiento debido a que el tamaño del subgrupo D-II incrementa su media final. A nivel biológico el tratamiento tuvo un efecto significativo, principalmente en el subgrupo D-II, en el que las medidas biológicas iniciales se apartaban más del perfil control.

Es precisamente en este subgrupo donde el efecto del tratamiento es más llamativo no sólo por que el número de agrupamientos sufre un gran aumento sino por que su puntuación media total en la escala HDRS después del tratamiento se reduce significativamente, incluso por debajo del criterio de remisión de la sintomatología depresiva, con una media  $\leq 7$  (Ballenger, 1999). Estos cambios biológicos y clínicos correlacionan significativamente, existe una correlación significativa entre la mejoría en la escala HDRS y el incremento en el número de agrupamientos.

Por último, después del tratamiento se analizaron de nuevo las posibles asociaciones entre las variables “tipo de tratamiento” y “diagnóstico” con las medidas biológicas y las puntuaciones de la HDRS, y no se encontraron asociaciones significativas para ninguno de los grupos depresivos. Ello implica que el tipo de tratamiento prescrito no fue la causa de que un subgrupo depresivo mostrara mejor respuesta y que la problemática sobre la elección del tratamiento psicofarmacológico individualizado continúa sin resolver (Chang y Fava, 2010; Papakostas, 2010).

En conclusión, la posibilidad de que el análisis del agrupamiento de SERT en muestras periféricas sanguíneas pueda convertirse en un verdadero biomarcador de eficacia terapéutica, permitiría obtener una prueba objetiva sobre posibles subtipos depresivos y desarrollar un tratamiento más personalizado que consiguiera aumentar el porcentaje de pacientes respondedores, disminuyendo el número de recaídas y recurrencia de episodios depresivos. Primero habría que comprobar que realmente esos posibles subgrupos representan subpoblaciones clínicas diferentes (observando si las diferencias en la puntuación total de la escala HDRS también aparece en otras escalas clínicas de depresión), estudiando el significado de las alteraciones en la agrupación de SERT en linfocitos dentro de la fisiopatología de la depresión, así como, las posibles alteraciones en la agrupación de SERT en la depresión del SNC.



## **Capítulo III**

**Alteraciones de la agrupación del  
transportador de serotonina en la  
membrana de linfocitos en relación  
con la Escala de Autoevaluación de la  
Anhedonia (EAA)**



## **A. Introducción**

En las últimas décadas se ha puesto de manifiesto la importancia de la anhedonia como síntoma fundamental en diversos trastornos neuropsiquiátricos, incluyendo la depresión y la esquizofrenia. El término utilizado por primera vez por Ribot en 1896, se define como una disminución de la capacidad de experimentar placer, en la que se describe una falta de interés y una atenuación de todas las actividades habitualmente placenteras (Joiner y col., 2003). Numerosos autores destacados como Van Praag (1965), Klein (1987) o Fawcett (1983a) han incluido la anhedonia entre los síntomas nucleares del trastorno depresivo mayor, del mismo modo que los principales sistemas de clasificación como el DSM-IV-TR (APA, 2000), que considera la anhedonia como un síntoma central en su definición de “episodio depresivo mayor” y en su especificación de “síntomas melancólicos”, y la CIE-10 (OMS, 1992), que ha incluido la incapacidad de sentir placer y experimentar emociones agradables entre los síntomas biológicos de la depresión mayor.

Sin embargo, durante años han existido datos contradictorios respecto a la relación entre la anhedonia y la depresión mayor. De especial interés son las explicaciones de Rado (1960), que estableció la hipótesis de una predisposición heredada para la esquizofrenia, a la que denominó anhedonia, y que interaccionaría con el ambiente produciendo la esquizotipia. Algunos autores, siguiendo esta línea, consideran que la anhedonia es un síntoma principal de la depresión mayor, con carácter transitorio, mientras que se trataría de un “rasgo premórbido personalógico” permanente de la esquizofrenia. La anhedonia sería diferente en una y otra patología (Bernstein y Riedel, 1987). Klein (1974) que otorgó a la anhedonia un carácter patognomónico en la depresión siendo el rasgo clave en los trastornos depresivos y Meehl (1962, 1975, 1987) que habla de la anhedonia no sólo como un “estado” sino como un marcador de vulnerabilidad genética que contribuiría al desarrollo de la enfermedad depresiva al interaccionar con factores psicosociales estresantes, es decir, un rasgo constitucional (transmitido genéticamente) y perdurable que posiblemente causa depresión. Para Meehl los individuos con anhedonia (baja capacidad hedónica) estarían predispuestos a padecer esquizofrenia o depresión. Más recientemente autores como Akiskal y Weise (1992) defienden la anhedonia como un estado crónico del trastorno distímico que podría considerarse un tipo de personalidad.

En base a las ideas de estos tres autores, Rado, Meehl y Klein, se ha desarrollado todo el campo de estudio sobre la anhedonia.

Independientemente de que la anhedonia pueda tener una relación más estrecha que con la esquizofrenia o la depresión, como mencionamos en el primer párrafo, actualmente se considera

un síntoma central en el trastorno depresivo mayor y son numerosas las evidencias que así lo demuestran. Fawcett y col. (1983) observaron en una muestra de 101 con TDM que, los sujetos que puntuaban más alto en las escalas de anhedonia eran más jóvenes, estaban más deprimidos y mostraban una pérdida de placer respecto a la comida, el sexo, los contactos sociales y el trabajo, es decir, presentaban una pérdida generalizada de la capacidad de placer (Fawcett y col., 1983b). Asimismo, los estudios de potenciales evocados han demostrado que los sujetos anhedónicos muestran una menor respuesta tanto a estímulos neutrales como placenteros, debido seguramente a una disfunción cognitiva asociada a una disminución en la capacidad atencional. En todos ellos se describe una reducción en el componente P300 (Simons y col., 1982; Miller, 1986; Dubal y col., 2000; Franken y col., 2006).

Los modelos animales de anhedonia se han desarrollado básicamente a partir de la hipótesis de la acción anhedónica de los neurolépticos. Esta hipótesis, desarrollada por Wise en 1978, sugiere que los neurolépticos bloquean el impacto hedónico de los refuerzos positivos a través de algún componente dopaminérgico y de sus conexiones eferentes esenciales para las experiencias subjetivas y motivacionales del placer (Carnoy y col., 1986) También, en estudios con animales habituados al consumo de cocaína, a los que se les suprime bruscamente la sustancia, se observó un estado anhedónico severo cuya magnitud y duración era proporcional a la cantidad de cocaína consumida durante los periodos de autoadministración, que podría deberse a una disminución de la transmisión dopaminérgica post-cocaína (Markou y Koob, 1992).

Por otro lado, los modelos animales de depresión han demostrado que el estrés induce un comportamiento similar al anhedónico (Anisman y Matheson, 2005). Diversos procedimientos, incluyendo el estrés crónico leve (Willner, 2005), la indefensión aprendida (Henn y Vollmayr, 2005), el estrés inevitable (Zacharko y col., 1983), y la separación temprana (Matthews y Robbins, 2003) han demostrado disminuir la sensibilidad de los animales para la recompensa.

En la búsqueda de posibles biomarcadores de la anhedonia, una cantidad importante de publicaciones se han centrado en la idea de que las citocinas, como los neurotransmisores y las hormonas, pueden contribuir a la provocación o la exacerbación de la anhedonia y los trastornos afectivos. Más concretamente se ha señalado la importancia de los efectos secundarios neuropsiquiátricos asociados a los tratamientos con IFN-alfa (interferón alfa) (Capuron y col., 2003) y como las elevaciones crónicas de citocinas (interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) o IL-2) generan cambios neuroendocrinos y sobre la neurotransmisión cerebral que son interpretadas por el cerebro como factores de estrés, y pueden contribuir al desarrollo de la depresión (Anisman y col., 2002, 2003, 2005). Otro posible biomarcador que se ha señalado

en relación con la anhedonia es el polimorfismo funcional Val158Met del gen COMT (catecol-o-metiltransferasa), asociado con diferencias en la respuesta emocional identificadas en la esquizofrenia y en los trastornos del estado de ánimo (Berenbaum y Oltmans, 1992)

Dada la importancia de la anhedonia en la depresión mayor y que en estudios previos realizados en nuestro laboratorio (revisar Capítulo II) hemos demostrado la validez de la agrupación de SERT en linfocitos humanos como un posible biomarcador de eficacia terapéutica en el TDM, en base a la significación correlacional entre el incremento del número de agrupamientos de SERT y la mejoría en la puntuación total de la escala HDRS, en este estudio lo que se pretendió fue observar si esa misma significación correlacional era válida para la escala de anhedonia EAA. La EAA o Escala de Autoevaluación de la Anhedonia (Olivares y col., 2005) ha demostrado una adecuada fiabilidad (alfa de Cronbach  $\geq$  8) y validez de constructo, convergente y discriminante. La EAA captura adecuadamente el síntoma anhedónico en pacientes deprimidos reflejando diferencias estadísticamente significativas respecto a los sujetos control en todos los ítems que miden los tres dominios de la anhedonia (capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales) para las tres subescalas que conforman la EAA: subescala de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO. Además, mediante esta escala se ha diferenciado la anhedonia presente en la esquizofrenia y en la depresión, los pacientes esquizofrénicos, al contrario que los deprimidos, no muestran diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles en las subescalas INTENSIDAD y FRECUENCIA (Olivares y col., 2005).

De este modo, podríamos consolidar la validez de la agrupación de SERT como biomarcador de eficacia terapéutica en TDM, de cumplirse la asociación entre los subtipos depresivos y las puntuaciones en la escala clínica EAA.

## B. Resultados

### 3.1. Características demográficas y clínicas de los sujetos de estudio.

Se utilizó para este estudio el mismo grupo de pacientes, con diagnóstico de TDM, y el mismo grupo control que se emplearon en el estudio anterior (ver **Capítulo II, punto 2.1**, página 150), ambos formados por 38 individuos.

Los datos relativos a las características demográficas: “edad”, “sexo”, “estado civil”, “situación laboral” y “nivel educativo”, del grupo depresivo y grupo control, y las características clínicas: “diagnóstico”, “tratamiento” y “puntuación media total HDRS” del grupo depresivo aparecen recogidas en las **Tablas II, III y IV (Capítulo II, punto 2.1)**. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables sociodemográficas entre el grupo depresivo y control siendo perfectamente comparables entre sí. Dentro del grupo depresivo sí se observaron variaciones significativas respecto al tipo de diagnóstico y tipo de tratamiento. Un 29% de la muestra recibió el diagnóstico de trastorno depresivo mayor, episodio único, frente a un 71% con diagnóstico de trastorno depresivo mayor, episodio recidivante. El tipo de tratamiento también varió dentro del conjunto de pacientes: el 60,5% recibió un combinado antidepressivo+ansiolítico, el 23,9% fue tratado con un combinado de antidepressivo+estabilizadores del estado de ánimo, el 7,8% recibió un combinado antidepressivo+antipsicótico y el 7,8% restante fue tratado con monoterapia antidepressiva.

### 3.2. Estudio de la expresión del transportador SERT en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos.

A modo de resumen, y como ya se describió en el **Capítulo II (punto 2.2)**, en los pacientes depresivos observamos una alteración en la agrupación de SERT con respecto al grupo de sujetos control. La muestra depresiva total mostró un número medio de agrupamientos SERT-positivos ( $58,38 \pm 2,4$ ) similar [ $p > 0,24$ ] al del grupo control ( $53,4 \pm 2,2$ ), pero con un tamaño medio ( $0,15 \pm 0,007 \mu\text{m}^2$ ) significativamente [ $p < 0,02$ ] más grande al del grupo control ( $0,12 \pm 0,002 \mu\text{m}^2$ ). El subgrupo depresivo D-I se caracterizó por un número medio de agrupamientos ( $61,07 \pm 2,4$ ) mayor al del grupo control y al de la muestra depresiva total, aunque sin diferencias estadísticamente significativas [ $p > 0,5$  y  $p > 0,9$ , respectivamente], y un tamaño medio

( $0,14 \pm 0,004$ ) semejante al del grupo control [ $p > 0,9$ ] y ligeramente inferior al de la muestra depresiva total [ $p > 0,4$ ]. Por último, el subgrupo depresivo D-II presentó un número medio de agrupamientos ( $48,28 \pm 3,5$ ) significativamente [ $p < 0,05$ ] inferior al del subgrupo D-I y un tamaño medio ( $0,21 \pm 0,02$ ) significativamente [ $p < 0,001$ ] mayor al del grupo control, la muestra depresiva total y el subgrupo D-I.

Asimismo, los gráficos de distribución del tamaño de los agrupamientos SERT-positivos en el grupo control, la muestra depresiva total y el subgrupo D-I se mostraron muy similares entre sí, con un pico modal entorno al 40%, entre  $0,05-0,10 \mu\text{m}^2$ , y diferentes todos ellos al del subgrupo D-II, con un pico modal inferior al 30% entre  $0,05-0,10 \mu\text{m}^2$ . Este parámetro nos permitió diferenciar entre los dos subgrupos depresivos en relación con la agrupación de SERT. En este capítulo mantuvimos ambos subgrupos en relación con el estudio de la escala EAA (ver **Figuras 5, 6 y 7, Capítulo II**).

### **3.3. Estudio de las puntuaciones clínicas de la escala EAA en pacientes depresivos.**

#### **3.3.1. Análisis de las diferencias en la escala clínica EAA en pacientes depresivos no tratados.**

Las puntuaciones totales de la escala de anhedonia EAA y de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO (ver **Anexo 6**) obtenidas por la población depresiva total y los subgrupos depresivos D-I y D-II fueron muy similares para los tres grupos, sin diferencias estadísticamente significativas: [ $F(2)=1,31, p > 0,9$ ]; [ $F(2)=0,11; p > 0,898$ ]; [ $F(2)=0,10; p > 0,906$ ]; [ $F(2)=0,001; p > 0,99$ ], es decir, los tres grupos se mostraron igualmente anhedónicos (**Tabla I**).

Un análisis más específico mostró que las puntuaciones en los ítems que miden los tres dominios de la Anhedonia: Anhedonia Física, Anhedonia Intelectual y Anhedonia Social de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, no reflejaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,9$ ) entre la población depresiva total, D-I y D-II en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de las tres subescalas. Asimismo, para los tres grupos las puntuaciones totales de la subescala CAMBIO fueron claramente superiores a las puntuaciones totales de las subescalas INTENSIDAD y FRECUENCIA, aunque las diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

Sin embargo, si se encontraron diferencias estadísticamente significativas dentro de la población depresiva total y del subgrupo D-I en la capacidad para disfrutar de las actividades físicas respecto de las actividades sociales de la subescala de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO. La muestra depresiva total presentó puntuaciones significativamente más altas en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico respecto a los ítems que miden la capacidad de disfrute social de la subescala de INTENSIDAD ( $p < 0,005$ ), FRECUENCIA ( $p < 0,002$ ) y CAMBIO ( $p < 0,02$ ), sin diferenciarse significativamente de los ítems que miden la capacidad de disfrute intelectual. Del mismo modo, el subgrupo depresivo D-I presentó puntuaciones significativamente más altas en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico respecto a los ítems que miden la capacidad de disfrute social de la subescala de INTENSIDAD ( $p < 0,01$ ), FRECUENCIA ( $p < 0,02$ ) y CAMBIO ( $p < 0,02$ ), sin diferenciarse significativamente de los ítems que miden la capacidad de disfrute intelectual. Es decir, ambos grupos mostraron mayor anhedonia física que social tanto en intensidad, como en frecuencia y en la percepción de cambio. En el subgrupo D-II, las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico también fueron superiores a las puntuaciones en los ítems relativos al disfrute social, pero las diferencias no alcanzaron significancia estadística (**Tabla II; Figura 1**).

Por tanto, los datos al inicio del estudio indicaron que no hubo diferencias intergrupales estadísticamente significativas y que todos ellos presentaron índices de anhedonia parecidos, con una mayor anhedonia física que social, a excepción del subgrupo D-II que no presentó puntuaciones significativamente mayores en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico respecto a los ítems que miden capacidad de disfrute social. Pero si hubo diferencias intragrupalas en la muestra depresiva total y el subgrupo D-I con mayores puntuaciones en anhedonia física que social.



**Tabla I.** Diferencias en la puntuación total de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para los tres grupos de estudio.

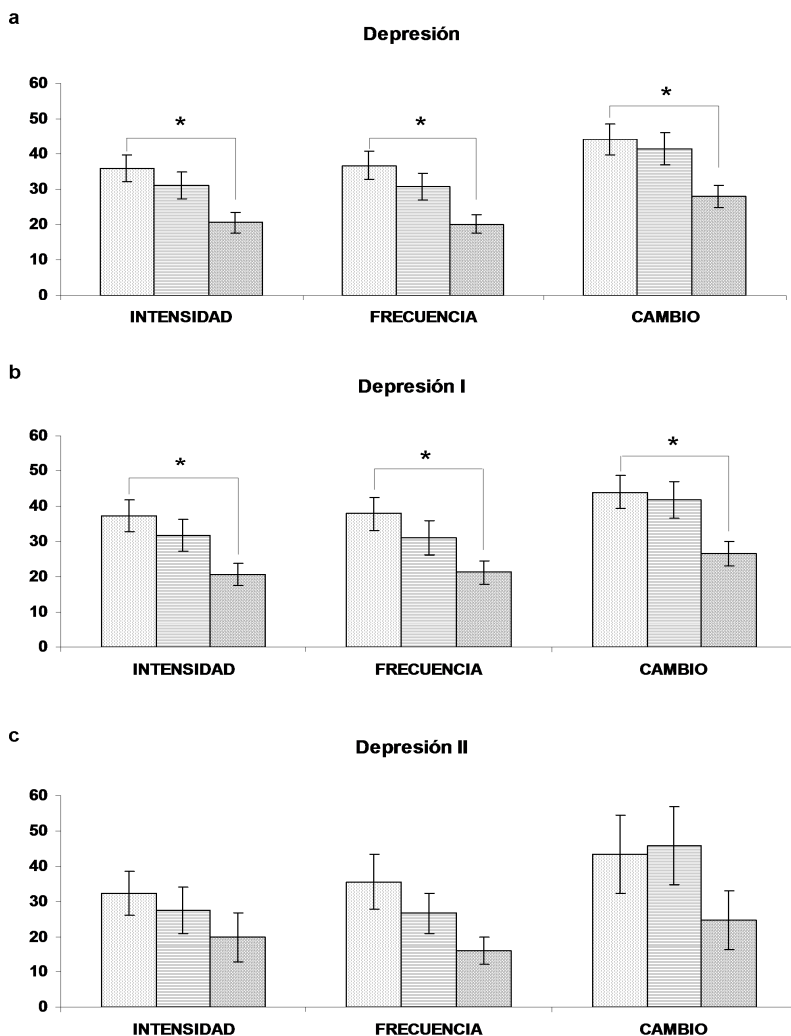
	EAA	INTENSIDAD	FRECUENCIA	CAMBIO
<b>Depresión</b>	287,37±24,7	87,46±8,85	87,34±9,1	112,57±9,2
<b>Depresión I</b>	291,85±29,16	89,70±10,6	90,01±10,8	112,14±10,8
<b>Depresión II</b>	272,25±47,58	79,87±15,6	78,35±16,5	114,03±20,11
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(1,31);p&gt;0,9</b>	<b>F(0,11);p&gt;0,9</b>	<b>F(0,10); p&gt;0,9</b>	<b>F(0,00);p&gt;0,9</b>

**Tabla II.** Diferencias en las puntuaciones medias totales de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con la capacidad de disfrute físico, intelectual y social, para los tres grupos de análisis DT (muestra depresiva total), D-I y D-II.

	<i>Anhedonia Física</i>			<i>Anhedonia Intelectual</i>			<i>Anhedonia Social</i>			<i>Puntuaciones Totales</i>		
	DT	D-I	DII	DT	D-I	D-II	DT	D-I	D-II	DT	D-I	DII
<b>INT</b>	35,9	37,2	32,4	30,9	31,7	27,5	20,5	20,72	19,9	87,5	89,7	79,8
<b>FRE</b>	36,7	37,8	35,6	30,6	31	26,7	20	21,22	16	87,3	90	78,3
<b>CAM</b>	43,2	43,9	43,4	41,5	41,7	45,9	27,7	26,56	24,7	112	112	114
	<b>115</b>	<b>118</b>	<b>111</b>	<b>103</b>	<b>104</b>	<b>100</b>	<b>68</b>	<b>68</b>	<b>60</b>	<b>287</b>	<b>291</b>	<b>272</b>

DT: Depresión o Población depresiva total  
D-I: Depresión I  
D-II: Depresión II

INT: INTENSIDAD  
FRE: FRECUENCIA  
CAM: CAMBIO



**Figura 1.** Puntuación total en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas (□), intelectuales (▨) y sociales (▩) de la escala INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para los tres grupos de estudio: Depresión (población depresiva total) (a), Depresión I (b) y Depresión II (c), antes del inicio de tratamiento psicofarmacológico. En la población depresiva total (a) y en el subgrupo D-I (b), las puntuaciones relativas a los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades físicas fueron significativamente (\*) más altas que las de los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades sociales. Los datos se expresan en medias±ESM.

Por otro lado, como en el estudio sobre la alteración en la agrupación de SERT en relación con la escala HDRS, en este estudio también analizamos la posible relación entre las puntuaciones totales de la escala EAA (y de sus subescalas) obtenidas por cada paciente con el tipo de diagnóstico y el tipo de tratamiento recibido para descartar que las variaciones en las puntuaciones estuvieran determinadas por estas variables (**Tabla III** y **IV**, respectivamente). No se encontraron diferencias estadísticamente en las puntuaciones totales de EAA debido al tipo de diagnóstico o tratamiento.

**Tabla III.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA (y subescalas) según el tipo de diagnóstico (antes del tratamiento)

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Episodio único</b>	274,35±40,11	73,74±9,73	80,28±11,17	111,93±22,86
<b>Episodio recidivante</b>	291,15±30,05	95,77±12,04	93,98±12,68	115,78±11,98
<b>Test t de Student</b>	<b>t(-0,620)</b> <b>p&gt;0,291</b>	<b>t(-1,065)</b> <b>p&gt;0,295</b>	<b>t(-0,625)</b> <b>p&gt;0,537</b>	<b>t(-0,160)</b> <b>p&gt;0,874</b>

**Tabla IV.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA (y subescalas) según el tipo de tratamiento psicofarmacológico (antes del tratamiento).

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Monoterapia antidepressiva</b>	168,50±18,5	52,75±12,75	30,95±0,75	85,05±4,95
<b>Antidepressivo + Ansiolítico (AD+ANS)</b>	345,88±38,4	99,81±11,60	113,01±11,54	134,34±14,60
<b>Antidepressivo + Antipsicótico (AD+AP)</b>	262,50±38,5	74,50±24,41	87,23±32,11	99,63±29,71
<b>Antidepressivo + Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	263±63,48	80,17±27,25	77,37±27,51	101,30±22,44
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(1,180)</b> <b>p&gt;0,344</b>	<b>F(0,686)</b> <b>p&gt;0,568</b>	<b>F(1,272)</b> <b>p&gt;0,303</b>	<b>F(0,554)</b> <b>p&gt;0,649</b>

**3.3.2. Correlaciones entre la escala EAA y los parámetros biológicos en los individuos depresivos no tratados.**

En el estudio anterior (**Capítulo II, punto 2.3.2**) no se encontraron correlaciones significativas entre las puntuaciones totales de la escala HDRS y los parámetros biológicos (número y tamaño de los agrupamientos SERT-positivos) para la muestra depresiva total y el subgrupo D-I, con la excepción de una correlación estadísticamente significativa para el subgrupo D-II entre el número de agrupamientos SERT-positivos y las puntuaciones totales en la escala HDRS. En este estudio se comprobó si esa correlación se repetiría para las puntuaciones en la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO. Los datos mostraron de nuevo la ausencia de correlaciones significativas entre los parámetros biológicos y clínicos para la muestra depresiva total y el subgrupo D-I, y la existencia de correlaciones estadísticamente significativas entre el incremento en el número de agrupamientos SERT-positivos y la mejora en las puntuaciones totales de la escala EAA [R= -0,834; p<0,009] y de las subescalas INTENSIDAD [R= -0,904; p<0,03] y FRECUENCIA [R= -0,915; p<0,03] para el subgrupo D-II. Únicamente, la subescala de CAMBIO no mostró una correlación estadísticamente significativa con el número de agrupamientos para D-II (**Tabla V**).

**Tabla V.** Correlaciones entre las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO con el número y tamaño de los agrupamientos SERT-positivos.

		EAA	INTENSIDAD	FRECUENCIA	CAMBIO
<b>DT</b>	<b>Número de agrupamientos SERT-positivos</b>	p>0,230	p>0,221	p>0,464	p>0,23
		p>0,125	p>0,380	p>0,652	p>0,314
<b>D-I</b>					
<b>D-II</b>		<b>R= - 0,834**</b>	<b>R= - 0,904*</b>	<b>R= - 0,915*</b>	p>0,536
		<b>p&lt; 0,009</b>	<b>p&lt; 0,03</b>	<b>p&lt; 0,03</b>	
<b>DT</b>	<b>Tamaño de los agrupamientos SERT-positivos</b>	p>0,722	p>0,781	p>0,783	p>0,859
<b>D-I</b>		p>0,630	p>0,820	p>0,667	p>0,365
<b>D-II</b>		p>0,589	p>0,344	p>0,318	p>0,611

\*La correlación es significativa para p<0,05 (bilateral)

\*\*La correlación es significativa para p<0,01 (bilateral)

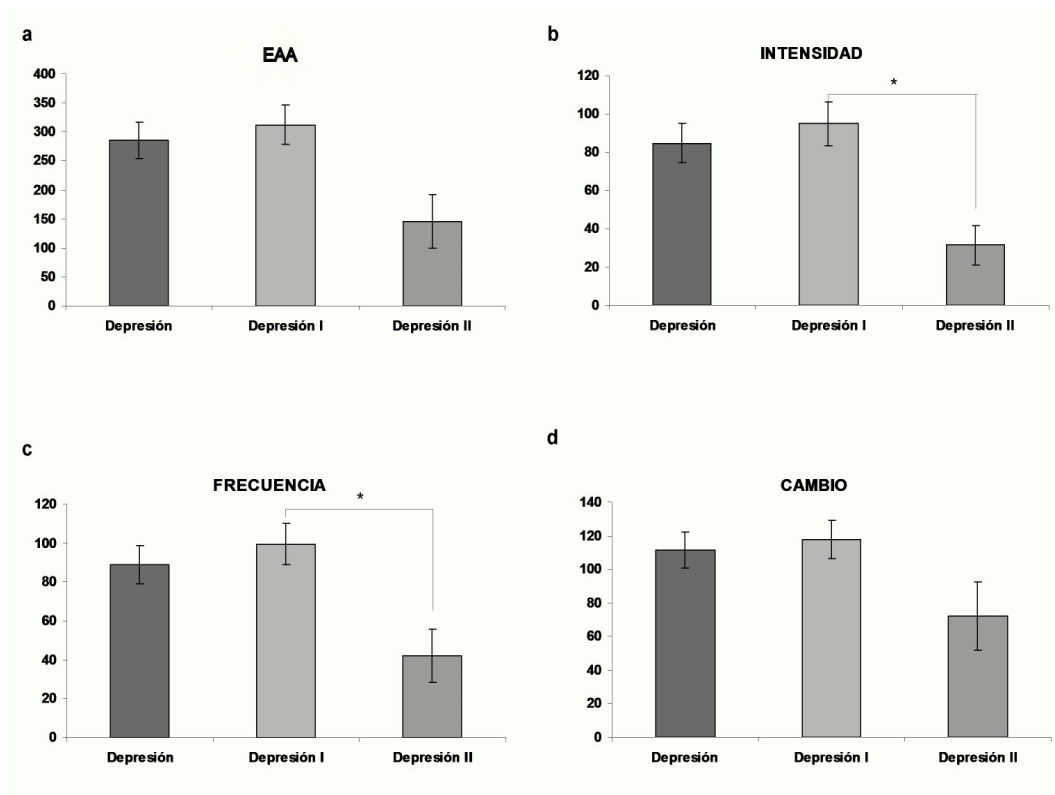
**3.3.3. Análisis de las diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO después del tratamiento.**

Las puntuaciones totales en la escala EAA y en las tres subescalas para la población depresiva total y los subgrupos depresivos D-I y D-II aparecen representadas en la **Tabla VI** y en la **Figura 2**. Como se puede apreciar, tras ocho semanas de tratamiento, las puntuaciones totales de la muestra depresiva total y del subgrupo D-I fueron similares entre si y más altas que las del subgrupo D-II, sin embargo, esas diferencias únicamente resultaron ser estadísticamente significativas para las subescalas INTENSIDAD ( $p < 0,01$ ) y FRECUENCIA ( $p < 0,01$ ). Las puntuaciones totales de la escala EAA ( $p > 0,09$ ) y de la subescala CAMBIO ( $p > 0,08$ ) no reflejaron diferencias intergrupales significativas. Posteriormente, el análisis de las diferencias recidivantes mediante la corrección de Bonferroni indicó la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en la puntuación total de la escala EAA ( $p > 0,72$ ) y de las tres subescalas ( $p > 0,85$ ) entre la población depresiva total y el subgrupo D-I, la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en las puntuaciones totales de la escala EAA ( $p > 0,09$ ) y de las tres subescalas ( $p > 0,1$ ) entre la población depresiva total y D-II y la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos depresivos, D-I y D-II, para las subescalas INTENSIDAD ( $p < 0,01$ ) y FRECUENCIA ( $p < 0,01$ ), sin diferencias significativas para la puntuación total de EAA ( $p > 0,09$ ) y de la subescala CAMBIO ( $p > 0,08$ ).

Se observó, también, que las puntuaciones totales de la subescala de CAMBIO fueron significativamente más altas que en las subescalas de INTENSIDAD y FRECUENCIA para los tres grupos de depresión como ya ocurría antes del inicio del tratamiento, a pesar de que las diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

**Tabla VI.** Diferencias en la puntuación total de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO entre los tres grupos de estudio después del tratamiento.

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Depresión</b>	285,40±31,56	84,71±10,44	89,07±9,88	111,6±10,67
<b>Depresión I</b>	312,26±33,74	94,78±11,58	99,44±10,57	118,04±11,45
<b>Depresión II</b>	145,40±45,98	31,40±10,33	41,98±13,5	72,02±20,38
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(2,490)</b> <b>p&gt;0,09</b>	<b>F(4,733)</b> <b>p&lt;0,01</b>	<b>F(4,586)</b> <b>p&lt;0,01</b>	<b>F(2,438)</b> <b>p&gt;0,08</b>



**Figura 2.** Puntuación total de la escala de anhedonia EAA (a) y de las subescalas INTENSIDAD (b), FRECUENCIA (c) y CAMBIO (d) para los tres grupos de depresión: Depresión (población depresiva total), Depresión I y Depresión II después de ocho semanas de tratamiento. Se observan diferencias estadísticamente significativas entre D-I y D-II en las puntuaciones totales de las subescala de INTENSIDAD y FRECUENCIA, la puntuación total de la escala EAA y de la subescala CAMBIO, continúa siendo similar para los tres grupos de estudio. Los datos aparecen representados en medias±ESM.

Asimismo, un análisis más específico sobre las puntuaciones de los tres dominios de la Anhedonia: Anhedonia Física, Intelectual y Social de las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA Y CAMBIO reveló que los pacientes del subgrupo D-II presentaron puntuaciones más bajas, estadísticamente significativas, en los ítems que evalúan la capacidad de disfrute físico, intelectual y social de la subescala INTENSIDAD, respecto de los pacientes del subgrupo D-I ( $p < 0,007$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,01$ , respectivamente). En la subescala de FRECUENCIA los pacientes del subgrupo D-II mostraron puntuaciones estadísticamente más bajas en los ítems que evalúan la capacidad de disfrute físico, intelectual y social respecto de los pacientes del subgrupo D-I ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,01$ , respectivamente), mientras que en la subescala de CAMBIO no se observaron diferencias significativas ni en la capacidad de disfrute físico ( $p > 0,06$ ), ni intelectual ( $p > 0,07$ ) o social ( $p > 0,08$ ), respecto del subgrupo D-I (**Tabla VII; Figura 3**).

Respecto al inicio del tratamiento, donde se observó una diferencia estadísticamente significativa entre las puntuaciones de los ítems que miden la capacidad de disfrute físico y los ítems referentes a la capacidad de disfrute social, después del tratamiento, se comprobó que las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico continuaron siendo significativamente más altas que en las de los ítems que miden la capacidad de disfrute social de la subescala de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para la población depresiva total ( $p < 0,02$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,01$ , respectivamente) y en el subgrupo D-I ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,004$ ;  $p < 0,01$ , respectivamente). Con la excepción del subgrupo D-II que también mostró puntuaciones más bajas en los ítems de anhedonia social que en los ítems que miden anhedonia física pero sin diferencias estadísticamente significativas (**Tabla VII; Figura 4**).

Teniendo en cuenta que las diferencias intergrupales reflejaron un efecto mayor del tratamiento en el subgrupo D-II que en D-I, se examinaron las variaciones (antes-después del tratamiento) dentro de cada grupo de depresión. El test t de Student para muestras relacionadas no reveló ninguna variación estadísticamente significativa en las puntuaciones medias de la escala EAA ni de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para la población depresiva total ni para el subgrupo D-I, sin embargo, en el subgrupo D-II se observó una disminución estadísticamente significativa en las puntuaciones totales de la escala EAA y de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO al comparar las puntuaciones antes y después del tratamiento (**Tabla VIII; Figura 5**).



**Tabla VII.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con la capacidad de disfrute físico, intelectual y social, para los tres grupos de análisis DT (muestra depresiva total), D-I y D-II, después del tratamiento.

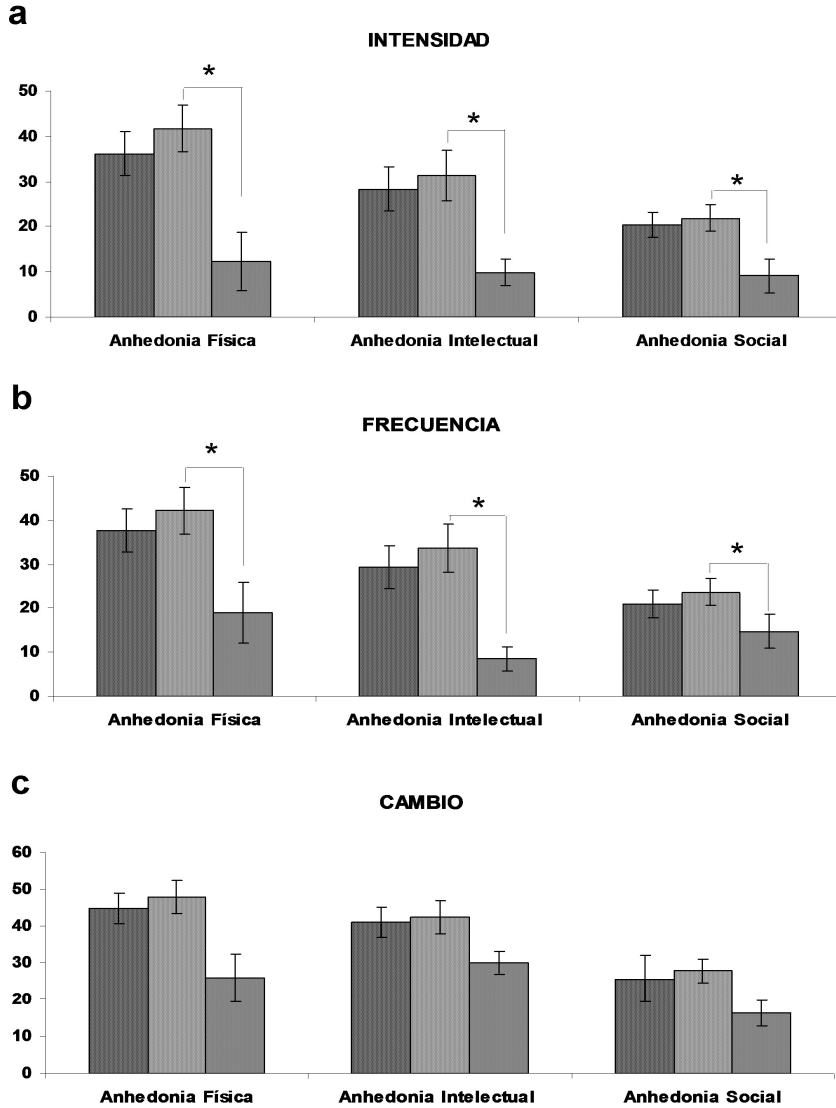
	<i>Anhedonia Física</i>			<i>Anhedonia Intelectual</i>			<i>Anhedonia Social</i>			<i>Puntuaciones Totales</i>		
	DT	D-I	D-II	DT	D-I	DII	DT	D-I	DII	DT	D-I	D-II
<b>INT</b>	36,2	41,7	12,3	28,3	31,2	9,9	20,3	21,9	9,1	84,71	94,8	31,4
<b>FRE</b>	37,7	42,2	18,9	29,3	33,6	8,5	21,5	23,6	14,7	89,07	99,4	41,9
<b>CAM</b>	44,8	47,8	25,7	41	42,4	30,1	25,7	27,8	16,2	111,6	118	72
	<b>118</b>	<b>131</b>	<b>57</b>	<b>98,6</b>	<b>107,2</b>	<b>48,5</b>	<b>66,9</b>	<b>73,3</b>	<b>39,9</b>	<b>285,4</b>	<b>312,2</b>	<b>145,4</b>

DT: Depresión o Población depresiva total  
D-I: Depresión I  
D-II: Depresión II

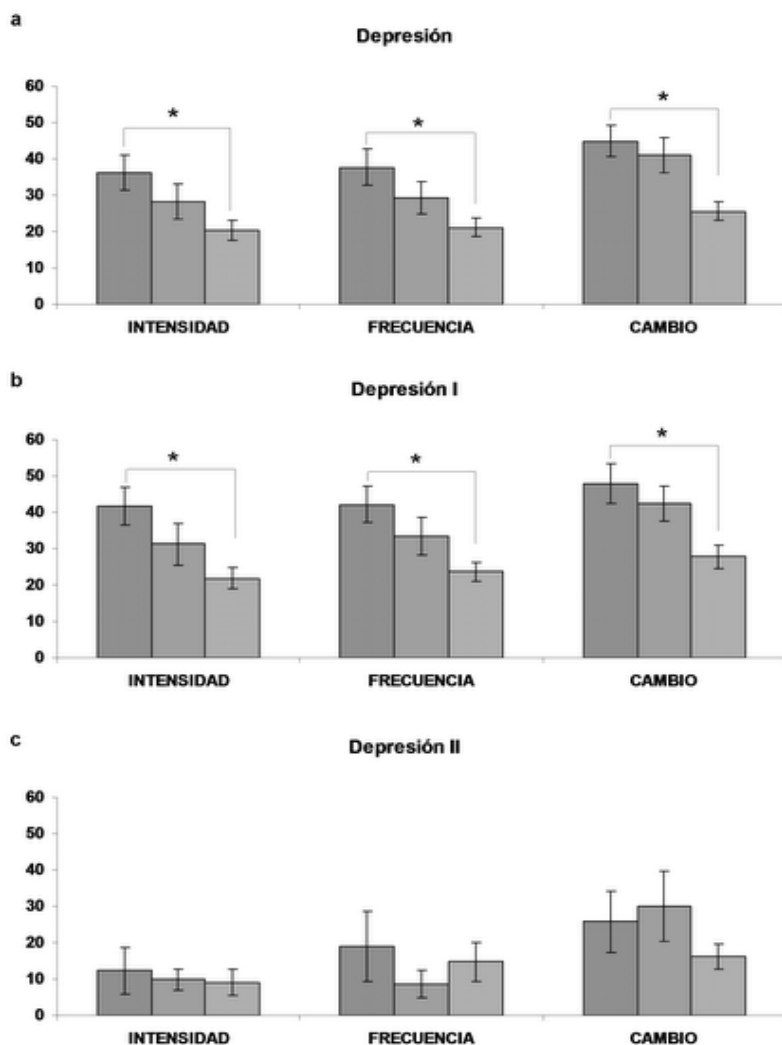
INT: INTENSIDAD  
FREC:FRECUENCIA  
CAM:CAMBIO

**Tabla VIII.** Diferencias en la escala EAA y en las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, antes-después del tratamiento, en la población depresiva total y en los subgrupos depresivos. Test t de Student para muestras relacionadas.

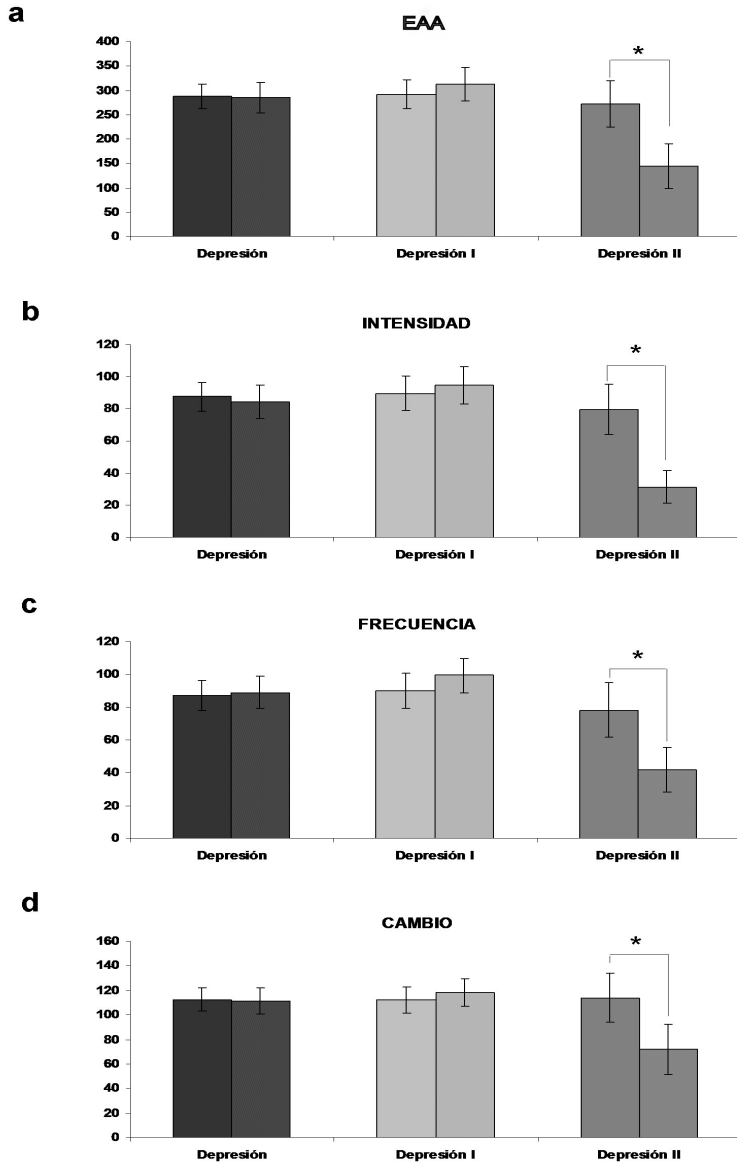
	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Depresión</b>	t(37)=1,226	t(37)= 1,176	t (37) = 1,055	t (37) = 1,062
Naïve-Tratado	p>0,236	p>0,211	p>0,284	p> 0,296
<b>Depresión I</b>	t(29)= - 0,210	t (29) = - 0,036	t (29)= - 0,275	t (29) = - 0,279
Naïve-Tratado	p>0,836	p> 0,972	p>0,786	p> 0,783
<b>Depresión II</b>	<b>t(7)=3,054</b>	<b>t (7) = 3,113</b>	<b>t(7) = 2,449</b>	<b>t (7) = 2,543</b>
Naïve-Tratado	<b>p&gt;0,018</b>	<b>p&gt;0,017</b>	<b>p&gt;0,044</b>	<b>p &gt;0,039</b>



**Figura 3.** Puntuaciones totales relativas a la capacidad de disfrute físico, intelectual y social de las subescalas de INTENSIDAD (a), FRECUENCIA(b) y CAMBIO(c) en los tres grupos de depresión (Depresión ■, Depresión I ▨ y Depresión II ▩), después de ocho semanas de tratamiento. Las puntuaciones totales fueron significativamente (\*) inferiores en el subgrupo Depresión II respecto al subgrupo Depresión I en la capacidad de disfrute físico, intelectual y social de las subescalas de INTENSIDAD y FRECUENCIA. Los datos aparecen representados en medias±ESM.



**Figura 4.** Puntuaciones totales relativas a la capacidad de disfrute físico ■, intelectual ■ y social ■ de las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para la muestra de depresión total (a), Depresión I (b) y Depresión II (c), después de ocho semanas de tratamiento. En la muestra total de depresión y en el subgrupo D-I las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades físicas fueron significativamente (\*) superiores a las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad de disfrute social en las tres subescalas de anhedonia. Los datos aparecen representados en medias±ESM.



**Figura 5.** Diferencias en la escala EAA (a) y en las subescalas INTENSIDAD (b), FRECUENCIA (c) y CAMBIO (d), antes-después del tratamiento, en la población depresiva total y en los subgrupos depresivos. Únicamente en el subgrupo Depresión II se observa una reducción estadísticamente significativa (\*) en las puntuaciones totales de anhedonia como resultado del tratamiento psicofarmacológico. Los datos se representan en medias±ESM.

Por último, las Tablas IX y X muestran que no hubo diferencias significativas en las puntuaciones de la escala EAA y de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con el tipo de diagnóstico ni con el tipo de tratamiento psicofarmacológico, ni antes ni después del tratamiento. El tiempo de tratamiento no muestra un efecto claro dado que el análisis se realiza en la población total.

**Tabla IX.** Diferencias en las puntuaciones medias totales de la escala EAA (y subescalas) según el tipo de diagnóstico y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Episodio único</b>	230,50±51,86	60,88±14,76	78,33±16,02	91,28±300,28
<b>Episodio recidivante</b>	261,70±39,41	79,74±14,26	81,46±13,57	100,49±13,63
<i>Diagnóstico</i>	<b>F(0,132);p&gt;0,78</b>	<b>F(0,01);p&gt;0,920</b>	<b>F(0,089);p&gt;0,766</b>	<b>F(0,328);p&gt;0,569</b>
<i>Tiempo</i>	<b>F(0,395);p&gt;0,53</b>	<b>F(0,589);p&gt;0,446</b>	<b>F(0,426);p&gt;0,516</b>	<b>F(0,106);p&gt;0,746</b>
<i>Diag*Tiempo</i>	<b>F(0,269);p&gt;0,62</b>	<b>F(0,060);p&gt;0,807</b>	<b>F(0,001);p&gt;0,980</b>	<b>F(1,069);p&gt;0,305</b>

**Tabla X.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA (y subescalas) según el tipo de tratamiento y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Monoterapia antidepressiva</b>	239,60±21,50	67,60±13,87	79±10,75	93,00±6,78
<b>Antidepressivo + Ansiolítico (AD+ANS)</b>	255,90±42,38	77,20±14,88	80,88±14,22	97,81±16,34
<b>Antidepressivo + Antipsicótico (AD+AP)</b>	345,20±108,75	114,43±37,54	122,96±37,88	107,80±37,29
<b>Antidepressivo + Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	208,53±61,03	51,76±21,94	59,58±19,32	97,18±24,79
<i>Tratamiento</i>	<b>F(0,347);p&gt;0,79</b>	<b>F(0,601);p&gt;0,62</b>	<b>F(0,662);p&gt;0,582</b>	<b>F(0,019);p&gt;0,99</b>
<i>Tiempo</i>	<b>F(0,403);p&gt;0,52</b>	<b>F(0,230);p&gt;0,63</b>	<b>F(0,451);p&gt;0,505</b>	<b>F(0,349);p&gt;0,56</b>
<i>Tratm*Tiemp</i>	<b>F(0,145);p&gt;0,93</b>	<b>F(0,196);p&gt;0,89</b>	<b>F(0,460);p&gt;0,711</b>	<b>F(0,029);p&gt;0,99</b>

### 3.4. Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento.

En el **Capítulo II (punto 2.4)**, se detalló que el efecto del tratamiento psicofarmacológico no había resultado significativo sobre el número y el tamaño medio de los agrupamientos SERT-positivos para la población depresiva total y para el subgrupo D-I, ya que no se observaron cambios estadísticamente significativos ( $p > 0,59$  y  $p > 0,09$  para la población depresiva total;  $p > 0,01$  y  $p > 0,09$  para D-I) al comparar las medidas de ambos parámetros antes y después del tratamiento. Sin embargo, en el subgrupo D-II, a pesar de no haber cambios significativos ( $p > 0,69$ ) en el tamaño medio de los agrupamientos, si se produjo un incremento significativo ( $p < 0,04$ ) del 27% en el número medio de agrupamientos (ver Figuras 10a y 10b, Capítulo II). Además, en relación con las diferencias intergrupales, después del tratamiento, desaparecieron las diferencias en el número medio de agrupamientos entre los tres grupos de depresión, adquiriendo un valor semejante al del grupo control, mientras que el tamaño medio se redujo en la población depresiva total y en D-I, pero no en el subgrupo D-II que no mostró ningún cambio, el tamaño medio de los agrupamientos continuó siendo mayor respecto a la población depresiva total y al subgrupo D-I (ver Figuras 10d y 10b, Capítulo II).

Asimismo, en el capítulo anterior se comprobaron las posibles asociaciones entre las variaciones en los parámetros biológicos y el tipo de tratamiento psicofarmacológico y de diagnóstico recibidos por los pacientes depresivos. Como se presentó en las Tablas XII y XIII (Capítulo II; punto 2.4) no se observó ninguna asociación estadísticamente significativa (\*) que pudiera estar influyendo en nuestras medidas.

**3.4.1. Correlaciones de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con los parámetros biológicos, después del tratamiento.**

Después del tratamiento, el análisis de correlaciones reveló que a mayor número de agrupamientos SERT-positivos mejor era el resultado clínico, es decir, mayor era la disminución en las puntuaciones de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA Y CAMBIO.

La **Tabla XI** muestra el análisis de correlaciones entre el número y tamaño de los agrupamientos SERT-positivos y las puntuaciones de EAA y sus subescalas después de ocho semanas de tratamiento, indicando que las correlaciones descritas antes del tratamiento (**Tabla V, punto 3.3.2**) se mantienen después del tratamiento. Estas correlaciones son significativas para el subgrupo D-II, que presenta una correlación negativa significativa entre el número de agrupamientos y las puntuaciones de la escala EAA ( $R = -0,942^*$ ;  $p < 0,017$ ) y las subescalas INTENSIDAD ( $R = -0,897^*$ ;  $p < 0,039$ ) y FRECUENCIA ( $R = -0,916^*$ ;  $p < 0,029$ ). Después del tratamiento el número de agrupamientos disminuye mientras que tiene lugar una mejoría en anhedonia para el subgrupo D-II.

En la población depresiva total y en el subgrupo depresivo D-I también se observaron correlaciones significativas después del tratamiento entre la escala EAA y el número de agrupamientos, sin embargo en ambos casos, a pesar de que sus puntuaciones de anhedonia disminuyeron tras el tratamiento, el número de agrupamientos no se había modificado como respuesta a los fármacos (ver **Capítulo II, punto 2.4.1**) y, por tanto, la correlación no es significativa a términos interpretativos.

**Tabla XI.** Correlaciones entre las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO con el número y tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos, después del tratamiento.

		<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>DT</b>	Número de agrupamientos	<b>R= -0,550**</b> <b>p&lt;0,01</b>	R= - 0,298 p>0,104	R= - 0,191 p>0,303	<b>R= - 0,496**</b> <b>p&lt;0,005</b>
	Tamaño de los agrupamientos	R= - 0,168 p>0,367	R= 0,149 p>0,424	R= 0,185 p>0,319	R= - 0,199 p>0,283
	Número de agrupamientos	<b>R= -0,537**</b> <b>p&lt;0,005</b>	<b>R= -0,537**</b> <b>p&lt;0,005</b>	<b>R= - 0,513**</b> <b>p&lt;0,007</b>	<b>R= - 0,465*</b> <b>p&lt;0,017</b>
<b>D-I</b>	Tamaño de los agrupamientos	R= 0,039 p>0,849	R= 0,146 p>0,477	R= -0,006 p>0,976	R= - 0,043 p>0,834
	Número de agrupamientos	<b>R= - 0,942*</b> <b>p&lt;0,017</b>	<b>R= - 0,897*</b> <b>p&lt;0,039</b>	<b>R= - 0,916*</b> <b>p&lt;0,029</b>	R= - 0,725 p>0,166
	Tamaño de los agrupamientos	R= - 0,291 p>0,635	R= 0,414 p>0,488	R= 0,274 p>0,656	R= - 0,116 p>0,853

\*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral)

\*\*La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral)



### **C. Discusión**

El objetivo fundamental de este estudio fue comprobar si los subgrupos depresivos D-I y D-II descritos en el capítulo anterior de alguna manera representaban dos subpoblaciones clínicas diferentes de depresión, teniendo en cuenta las correlaciones significativas encontradas entre las alteraciones en la agrupación de SERT en la membrana de los linfocitos y la escala de depresión HDRS. Para ello analizamos la posible asociación entre las alteraciones en la agrupación del transportador SERT y las diferencias en las puntuaciones totales de la escala de anhedonia EAA para los dos posibles subgrupos de depresión.

Los resultados obtenidos indicaron que, al inicio del estudio, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de depresión (población depresiva total, D-I y D-II). Las puntuaciones totales en la escala EAA y en las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO fueron muy similares para los tres grupos de estudio, compartiendo características como puntuaciones más elevadas en la subescala de CAMBIO respecto a las subescalas de INTENSIDAD y FRECUENCIA. Además, no se observaron diferencias estadísticamente significativas intergrupales en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO. Si cabe mencionar que en la población depresiva total y en el subgrupo D-I, las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades sociales, de las tres subescalas, fueron significativamente inferiores respecto a los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas e inferiores a los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades intelectuales, aunque en este último caso las diferencias no llegaron a ser significativas. Únicamente el subgrupo D-II no mostró diferencias en la capacidad para disfrutar en función del tipo de actividad, aunque sus puntuaciones en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades sociales fueron claramente inferiores a las de los ítems de naturaleza física, debido seguramente a los altos errores en sus medidas.

En nuestros datos se observa que la capacidad para disfrutar de actividades placenteras es poco intensa y poco frecuente en los tres grupos de depresión y que, además, los pacientes perciben un cierto cambio en su capacidad para disfrutar, ya que es en la subescala de CAMBIO en la que los tres grupos mostraron puntuaciones más elevadas. Estudios previos han demostrado que los pacientes deprimidos presentan diferencias estadísticas significativas respecto a los sujetos control en todos los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO. Los

pacientes con diagnóstico de depresión sentirían un placer menos intenso y menos frecuente ante lo que habitualmente les producía placer siendo, además, conscientes de su incapacidad para disfrutar (Olivares y col., 2005). Los mismos autores observaron, además, que los pacientes con depresión mostraban diferencias estadísticamente significativas respecto a los pacientes con esquizofrenia, no sólo en la intensidad y frecuencia con la que experimentan placer, sino por que en los pacientes esquizofrénicos no habría una incapacidad real para disfrutar ni para experimentar el placer como sensación, serían otros factores como la alteración del funcionamiento cognitivo, la apatía o la abulia los que podrían estar interfiriendo en la adecuada obtención del placer. Otros autores consideran que la anhedonia sólo alcanza niveles clínicamente significativos en un conjunto de pacientes con trastorno depresivo que coincide con aquellos casos en los que la clínica depresiva es más grave (ej., subtipo melancólico), las puntuaciones totales en las escalas de depresión (ej., HDRS) son más elevadas y existen correlaciones positivas entre estas puntuaciones y las puntuaciones totales en las escalas de evaluación de la anhedonia (ej., PAS y SAS, Chapman y Chapman, 1976) (Peliza y Ferrari, 2009).

Después de un periodo de ocho semanas de tratamiento en el subgrupo D-II las puntuaciones fueron significativamente más bajas que en el subgrupo D-I. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre D-I y D-II en la capacidad para disfrutar de actividades físicas, sociales e intelectuales de la subescala de INTENSIDAD y de la subescala de FRECUENCIA, pero no en la puntuación de la subescala de CAMBIO. Si nos fijamos en las puntuaciones del subgrupo D-II para cada una de las subescalas (**Tabla VIII**), podemos observar que en todas ellas las puntuaciones medias disminuyen, incluso, la puntuación de la subescala de CAMBIO se reduce en una proporción mayor que la de la subescala de FRECUENCIA, sin embargo, continúan siendo muy elevadas y quizá los pacientes experimenten un cambio pero no lo suficientemente importante como para equipararlo al estado premórbido. Otra explicación es que el error de las medidas es muy elevado y sería necesario contar con un grupo más amplio para comprobar si las diferencias aparecerían. Además, el análisis intragrupal mostró que sólo en el subgrupo D-II hubo diferencias estadísticamente significativas entre las puntuaciones antes del inicio del tratamiento y después del tratamiento en la subescala de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO.

Por último, los resultados revelaron que, además de una disminución significativa en las puntuaciones de anhedonia para el subgrupo depresivo D-II como resultado de la intervención psicofarmacológica, la mejoría en la escala EAA y en las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO correlacionó significativamente con el incremento en el número de

agrupamientos SERT-positivos. De este modo, el tratamiento tuvo un efecto significativo que provocó cambios a nivel biológico y cambios a nivel clínico que están asociados significativamente y que, además, son característicos de una subpoblación de pacientes depresivos.

En conclusión, la correlación significativa entre la mejoría en la escala de anhedonia EAA y el incremento en el número de agrupamientos SERT-positivos confirman los resultados obtenidos en el estudio anterior y permiten hacer más plausible la existencia de dos subpoblaciones clínicas de depresión. Estos resultados muestran que la alteración en la agrupación del transportador SERT en linfocitos puede ser un buen biomarcador de eficacia terapéutica en depresión mayor.



## **Capítulo IV**

**Alteraciones en la agrupación del  
receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en la  
membrana de linfocitos en relación con  
la Escala de Depresión de Hamilton  
(HDRS)**



## A. Introducción

La identificación de los receptores metabotrópicos 5-HT<sub>2A</sub> en las regiones del cerebro principalmente implicadas en la depresión, como el hipocampo, amígdala, corteza prefrontal, cuerpo estriado y estructuras olfativas (Xu y Pandey, 2000; McDonald y Mascagni, 2007) han aumentado el interés sobre el papel de estos receptores en los modelos animales de comportamiento depresivo y en la depresión humana.

En pacientes deprimidos se ha observado una hipersensibilidad de los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, tanto en plaquetas como en el SNC, (Van Oekelen y col., 2003) y un incremento de los sitios de unión a estos receptores en el cerebro (Yates y col., 1990; Shelton y col., 2009). La desensibilización y regulación a la baja de los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, después del tratamiento crónico con antidepresivos, antipsicóticos y antagonistas (Van Oekelen y col., 2001; Hanley y Hensler, 2002), junto a los efectos reguladores de este receptor sobre el factor neurotrópico derivado del cerebro (BDNF) (Vaidya y col., 1997; Riso y col., 2006), pueden tener implicaciones importantes en la etiología de la depresión. Además, numerosas investigaciones de carácter neurofarmacológico han demostrado que, en general, los tratamientos antidepresivos disminuyen la síntesis de receptores 5-HT<sub>2A</sub> (Balckshear y Sanders-Bush, 1982; Yamauchi y col., 2006) y se ha especulado sobre los posibles efectos antidepresivos que por si sola produce la regulación a la baja de estos receptores (Sibille y col., 1997).

La unión de serotonina a los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, los procesos de señalización que pone en marcha y el tráfico de estos receptores se ven afectados por la capa de lípidos que los rodea en la membrana plasmática (Björk y col., 2010). Al tratarse de receptores acoplados a proteína G el sitio de unión de su ligando se encuentra dentro de la membrana, de modo que la serotonina que se acumula en los lípidos circundantes sería la que se uniría preferentemente al receptor. La serotonina tendría como objetivo principal aquellos dominios de membrana que por su composición lipídica facilitan la unión a sus receptores (López y Lorch, 2008). En general, el colesterol y los glicosfingolípidos regulan la actividad de los todos receptores de serotonina mediante su agrupamiento y el de los componentes implicados en las cascadas de señalización, siendo fundamentales en la neurotransmisión serotoninérgica. Se ha demostrado que el transporte de serotonina se encuentra regulado por la asociación de SERT a dominios específicos de membrana ricos en colesterol y glicosfingolípidos, denominados balsas lipídicas (Magnani y col., 2004) y que la eliminación de colesterol reduce la capacidad de transporte de SERT debido a la disgregación de las balsas lipídicas, que aumenta la solubilidad de SERT, provocando

cambios conformacionales en la proteína (Scanlon y col., 2001). Asimismo, la disgregación de las balsas lipídicas por la disminución de colesterol afecta tanto a la unión de la serotonina al receptor 5-HT<sub>1A</sub> como al acoplamiento del receptor a la proteína Gq (Pucadyil y Chattopadhyay, 2004; Papoucheva y col., 2004). En el caso del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, en las balsas lipídicas los receptores 5-HT<sub>2A</sub> interaccionan con recidivantes proteínas adaptadoras de señalización que determinan su funcionalidad (desensibilización, regulación a la baja y síntesis de estos receptores). Por ejemplo, Xia y col. (2003) descubrieron en cultivos de células HEK-293, que los receptores 5-HT<sub>2A</sub> interaccionan con un tipo de proteína adaptadora conocida como PSD-95, que inhibe la internalización del receptor inducida por agonistas, aunque no provoca su desensibilización. También, Sheffer y col. (2006), observaron que la proteína quinasa S6 ribosomal RSK2 interacciona físicamente con el tercer bucle intracelular (i3) del receptor 5-HT<sub>2A</sub> modulando la señalización del receptor. RSK2 sería necesaria para la desensibilización heteróloga de 5-HT<sub>2A</sub>, a través del factor de crecimiento epidérmico. Bhatnagar y col., (2004) observaron que la Cav-1 (Caveolina 1), una proteína constitutiva de las balsas lipídicas calveolares, interactúa con los receptores 5-HT<sub>2A</sub> facilitando su acoplamiento a la proteína activadora de segundos mensajeros Gq, que causa en último término el aumento de Ca<sup>2+</sup> intracelular y pone en marcha cascadas de señales y actividad intracelular. Y, Turner y Raymond (2004) demostraron que la calmodulina, proteína reguladora en la transducción de la señal de Ca<sup>2+</sup>, podía proteger parcialmente al receptor 5-HT<sub>2A</sub> de su fosforilación por la PLC y, por tanto, limitar su internalización y desensibilización.

Por otro lado, los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), los fármacos antidepresivos de primera elección en el tratamiento de la depresión, no resultan efectivos para todos los pacientes con depresión, existe un porcentaje importante de cuadros depresivos, tanto en el contexto del trastorno unipolar, como bipolar, que no responde de forma satisfactoria, dado que sólo dos tercios de los pacientes responden realmente a esta monoterapia antidepresiva y que de ellos hasta un tercio responde del mismo modo ante placebo (Petersen y col., 2005; Belmaker, 2008). A ello se suma que, incluso, en los casos en los que la respuesta es positiva, las tasas de remisión y recuperación continúan siendo muy bajas y es frecuente la presencia de síntomas residuales, los cuales comportan un riesgo mayor de recaída y de suicidio y un deterioro funcional mayor (Malhi y col., 2005; Corcoran y col., 2007), aunque los pacientes respondan y mantengan un tratamiento activo (Bobo y Shelton, 2009), y que el retraso en la acción terapéutica de los ISRS y la presencia de depresiones resistentes a este tipo de antidepresivos ponen de manifiesto la necesidad de usar combinaciones farmacológicas seguras que aprovechen las sinergias farmacológicas y moleculares para alcanzar tratamientos más



eficaces. En esta búsqueda se ha demostrado que la principal sinergia farmacológica en el sistema serotoninérgico tiene lugar entre los ISRS y los antagonistas de receptores 2A de serotonina, debido a que aumentan la tolerabilidad de los ISRS, al bloquear sus efectos secundarios asociados a la estimulación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, y potencia su eficacia terapéutica (Pandey y col., 2010). Es más, publicaciones recientes destacan que la eficacia de los antagonistas 5-HT<sub>2A</sub> es semejante a la de los antidepresivos duales NASSA (antagonistas alfa 2 presinápticos; Mirtazapina) (Fawcett y Barkin, 1998) y ASIR (antagonistas duales de la serotonina 2A e inhibidores de la recaptación de serotonina; Nefazodona) (Gelenberg y col., 2003) y comparable a la de los ISRS (Papakostas y Fava, 2007).

Finalmente, en los últimos años numerosos estudios han puesto de manifiesto el valor del antagonismo 2A como complemento a la terapia con ISRS. Estudios efectuados con asignación aleatoria y control placebo han obtenido resultados concluyentes acerca de la eficacia de los fármacos antipsicóticos atípicos en el aumento de la respuesta clínica a los ISRS en el tratamiento de la depresión (Shelton y col., 2001; Weisstaub y col., 2006).

La importancia de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> en el trastorno depresivo mayor (TDM) reside en su implicación en numerosas acciones fisiológicas de la serotonina y en su participación en vías serotoninérgicas encargadas de la regulación del estado de ánimo y de las respuestas de ansiedad, y del control de las conductas obsesivas y compulsivas. Además, este receptor postsináptico se convierte en un posible biomarcador óptimo de depresión mayor puesto que se ha demostrado el aumento significativo de la densidad receptores 5HT<sub>2A</sub> en plaquetas (Mendelson, 2000) y en linfocitos (Yang y col., 2006). Pudiendo, por tanto, analizar las alteraciones de su agrupación en la membrana de los linfocitos, de modo semejante al análisis realizado con el transportador de serotonina.

## B. RESULTADOS

### 4.1. Características sociodemográficas y clínicas de los sujetos de estudio

Se incluyeron para este estudio 20 casos de trastorno depresivo mayor y 20 sujetos controles sanos, incluidos en la población depresiva total y el grupo control reclutados al inicio de este trabajo, cuyas muestras sanguíneas se analizaron como se describe en el apartado de Material y Métodos.

El grupo control estuvo formado por 11 hombres (55%) y 9 mujeres (45%), sin encontrarse en el grupo diferencias significativas en cuanto al sexo ( $p > 0,77$ ), y con un promedio de edad de 35,14 años (desviación estándar 6,08, rango 23-44). En el grupo de pacientes, 13 individuos fueron mujeres (40%) frente a 8 hombres (60%), sin significación estadística ( $p > 0,275$ ) y con un promedio de edad de 43,4 años (desviación estándar 15,03, rango 19-73). Ambos grupos mostrando homogeneidad interna (**Tabla I**). En cuanto a las diferencias intergrupales, el análisis estadístico no mostró ninguna diferencia significativa entre el grupo control y el grupo depresivo ni en cuanto al sexo [ $\chi^2(2) = 1,07, p > 0,21$ ] ni en cuanto a la edad [ $t(19) = -1,28, p > 0,28$ ], y no hubo ninguna diferencia sobresaliente respecto al nivel de estudio, situación laboral o estado civil por lo ambas muestras fueron comparables entre sí para el propósito de estudio (**Tabla I**).

En cuanto a las características clínicas de la muestra depresiva (**Tabla II**), se tuvieron en cuenta las siguientes variables: diagnóstico, tratamiento psicofarmacológico y puntuaciones en la Escala HDRS (ver **Anexo 5**). En la muestra depresiva se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con la historia de episodios depresivos que cada paciente presentaba al inicio del estudio, un 75% de los pacientes mostraron una historia de episodios depresivos mayores recidivantes, en el momento en el que participaron en el estudio, frente al 15% con historia de episodio único. El tipo de diagnóstico no mostró ninguna asociación ni con el sexo  $\chi^2(2) = 0,081, p > 0,559$  ni con la edad [ $\chi^2(2) = 1,190, p > 0,275$ ].

Casi la totalidad de los pacientes fueron tratados con dos o más medicaciones combinando fármacos antidepresivos, ansiolíticos, estabilizadores del estado del ánimo y antipsicóticos. La estrategia más frecuente fue la combinación farmacológica de antidepresivos y ansiolíticos, muy por encima de la monoterapia antidepresiva y del resto de combinaciones preescritas, las diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ) (**Tabla II**). Una descripción más detallada del tratamiento de cada paciente se recoge en la **Tabla III** permite observar algunos casos en los que el agente antidepresivo no fue el fármaco de primera línea, con combinaciones únicamente ansiolíticas o ansiolíticas con estabilizadores del ánimo.

**Tabla I.** Características socio-demográficas del grupo control y grupo depresivo.

	<b>Grupo control</b>	<b>Grupo depresivo</b>	<b>Estadístico (p)</b>
<b>N</b>	20	20	
<b>EDAD</b>	35,14±1,13	43,4±2,42	t(19)= -1,28; p(0,28)
<b>SEXO</b>			
Hombres	11 (55%)	8 (40%)	$\chi^2$ (2)= 1,07; p(0,21)
Mujeres	9 (45%)	12 (60%)	
<b>ESTADO CIVIL</b>			
Soltero	4 (20%)	6(30%)	
Casado	14(70%)	12(60%)	$\chi^2$ (8)= 5,18; p(0,588)
Separado	1(5%)	0(0%)	
Divorciado	0(0%)	1(5%)	
Viudo	1(5%)	1(5%)	
<b>SIT. LABORAL</b>			
Trabaja	18(90%)	15(75%)	
Estudia	1(5%)	1(5%)	$\chi^2$ (4)= 6,67; p(0,427)
No activo	1(5%)	4(20%)	
<b>ESTUDIOS</b>			
Graduado o menos	12(60%)	6(30%)	
Bachiller	1(5%)	11(55%)	$\chi^2$ (4)= 4,21; p(0,511)
Superiores	7(35%)	3(15%)	

**Tabla II.** Características clínicas de la muestra depresiva

	<b>Grupo depresivo</b>	<b>Estadístico (p)</b>
<b>Diagnóstico TDM</b>		
Episodio único	5 (29%)	$\chi^2$ (1)= 3,87; p(0,03)
Episodio recidivante	15 (71%)	
<b>Tratamiento</b>		
Monoterapia antidepresiva	1 (5%)	
Combinado AD+ ANS	12 (60%)	$\chi^2$ (3)= 27,64; p(0,01)
Combinado AD + AP	3 (15%)	
Combinado AD + EA	4 (20%)	
<b>HDRS</b>		
Media±ESM	22,2±1,19	-----

**AD (Antidepresivos); ANS (Ansiolíticos); AP (Antipsicóticos); EA (Estabilizadores del estado de ánimo).**

**Tabla III.** Descripción del tipo de diagnóstico y terapia psicofarmacológica en la muestra depresiva.

ORDEN	DIAGNÓSTICO (TDM)	TRATAMIENTO
1	Episodio único	Citalopram (AD), Lorazepam(ANS), Flurazepam (ANS)
2	Episodio recidivante	Citalopram (AD), Alprazolam (ANS), Loprazolam (ANS)
3	Episodio recidivante	Halazepam (ANS), Litio (EA) y Lormetazepam (ANS)
4	Episodio único	Alprazolam (ANS)
5	Episodio recidivante	Escitalopram (AD), Imipramina (AD), Lormetazepam (ANS), Pregabalina (EA)
6	Episodio recidivante	Trazodona (AD), Mianserina (AD), Lorazepam, Ketazolam, Clorazepato (ANS)
7	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Litio (EA)
8	Episodio recidivante	Imipramina (AD), Lorazepam(ANS), Risperidona (AP)
9	Episodio recidivante	Clonazepam (ANS), Venlafaxina (AD), Ziprasidona (AP)
10	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Oxcarbazepina (EA), Lormetazepam (ANS)
11	Episodio recidivante	Imipramina (AD), Litio (EA), Flunitrazepam (ANS)
12	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Halazepam (ANS), Mianserina (AD)
13	Episodio recidivante	Duloxetina (AD), Lorazepam(ANS), Pregabalina (EA)
14	Episodio único	Citalopram (AD), Ketazolam (ANS), Reboxetina (AD)
15	Episodio recidivante	Venlafaxina (AD), Mirtazapina (AD), Risperidona (AP), Lorazepam (ANS)
16	Episodio recidivante	Escitalopram (AD), Mirtazapina (AD)
17	Episodio recidivante	Duloxetina (AD), Litio (EA), Ácido valproico (EA), Ketazolam (ANS)
18	Episodio único	Escitalopram (AD), Lorazepam (ANS)
19	Episodio recidivante	Halazepam (ANS), Sertralina (AD)
20	Episodio único	Duloxetina (AD), Brotizolam (ANS)

(Antidepresivo); ANS (Benzodiazepinas ansiolíticas); AP (Antipsicóticos); EA (Estabilizadores del estado de ánimo).

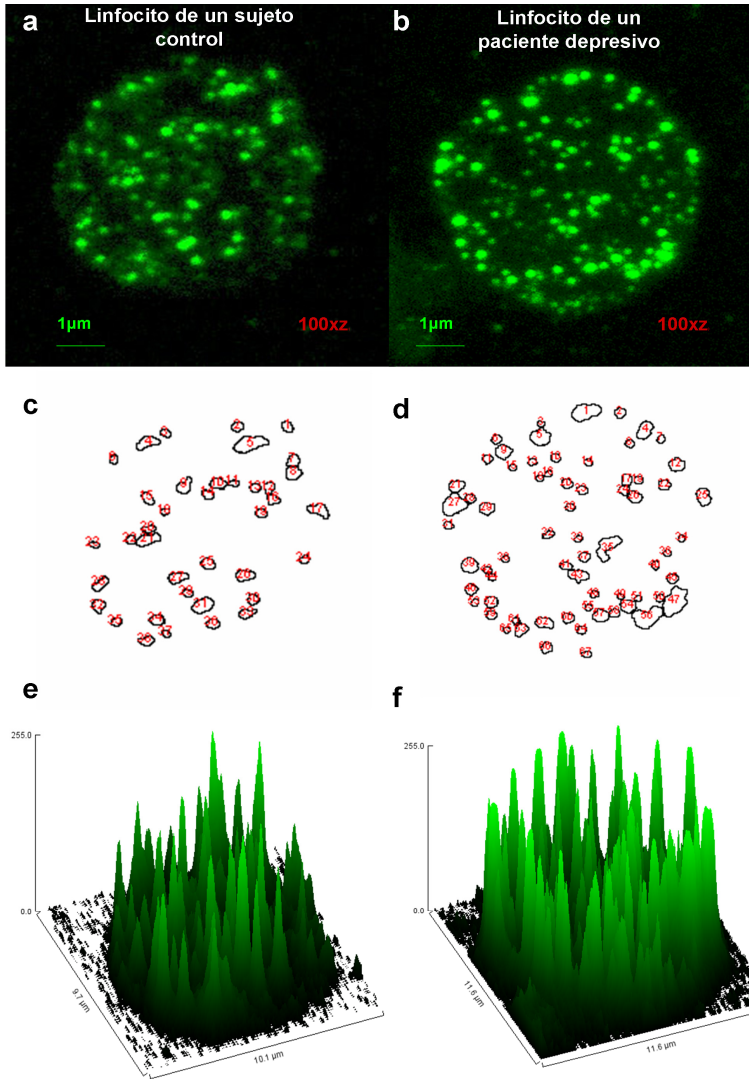
## 4.2. Estudio de la expresión del receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos.

### 4.2.1. Inmunomarcaje de la agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> en linfocitos control y depresivos.

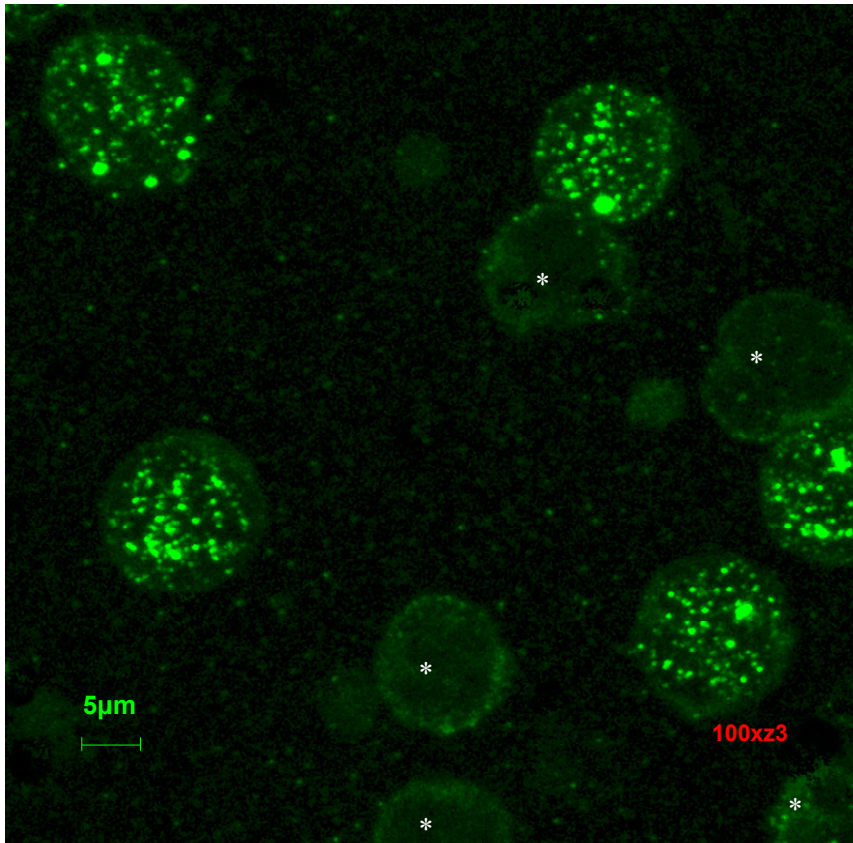
El inmunomarcaje para la agrupación de 5-HT<sub>2A</sub> en los linfocitos del grupo control mostró agrupaciones localizadas principalmente en la superficie de la membrana plasmática con agrupamientos bien definidos (**Figura 1a**). El número medio de agrupamientos por linfocito fue de  $41,1 \pm 0,9$  y el tamaño medio de los agrupamientos de  $0,13 \pm 0,004 \mu\text{m}^2$  (**Figura 3**). El inmunomarcaje para la agrupación de 5-HT<sub>2A</sub> en los linfocitos del grupo depresivo mostró una localización semejante al grupo control en la superficie de la membrana celular y agrupamientos muy bien definidos (**Figura 1b**), con un número medio de agrupamientos por linfocito de  $59,8 \pm 1,44$  muy superior respecto al del grupo control (con un incremento del 50%) y un tamaño medio de  $0,19 \pm 0,016 \mu\text{m}^2$  también mayor al del grupo control (con un incremento del 40%) (**Figura 3**). Un aspecto importante que se observó, tanto en los linfocitos control como en los linfocitos depresivos, fue la presencia parcial del inmunomarcaje para 5-HT<sub>2A</sub> en la membrana plasmática, sólo una subpoblación de linfocitos mostró inmunomarcaje, representada aproximadamente por el 50% de la población linfocitaria total (**Figura 2**).

El análisis comparativo de las muestras para las variables número y tamaño de los agrupamientos mostró diferencias estadísticamente significativas tanto en el número medio de agrupamientos [ $t(19) = 7,827$ ,  $p < 0,001$ ], como en el tamaño medio de los agrupamientos [ $t(19) = 2,550$ ,  $p < 0,01$ ], indicando que la presencia del estado depresivo está relacionado con un aumento en el número y tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>.

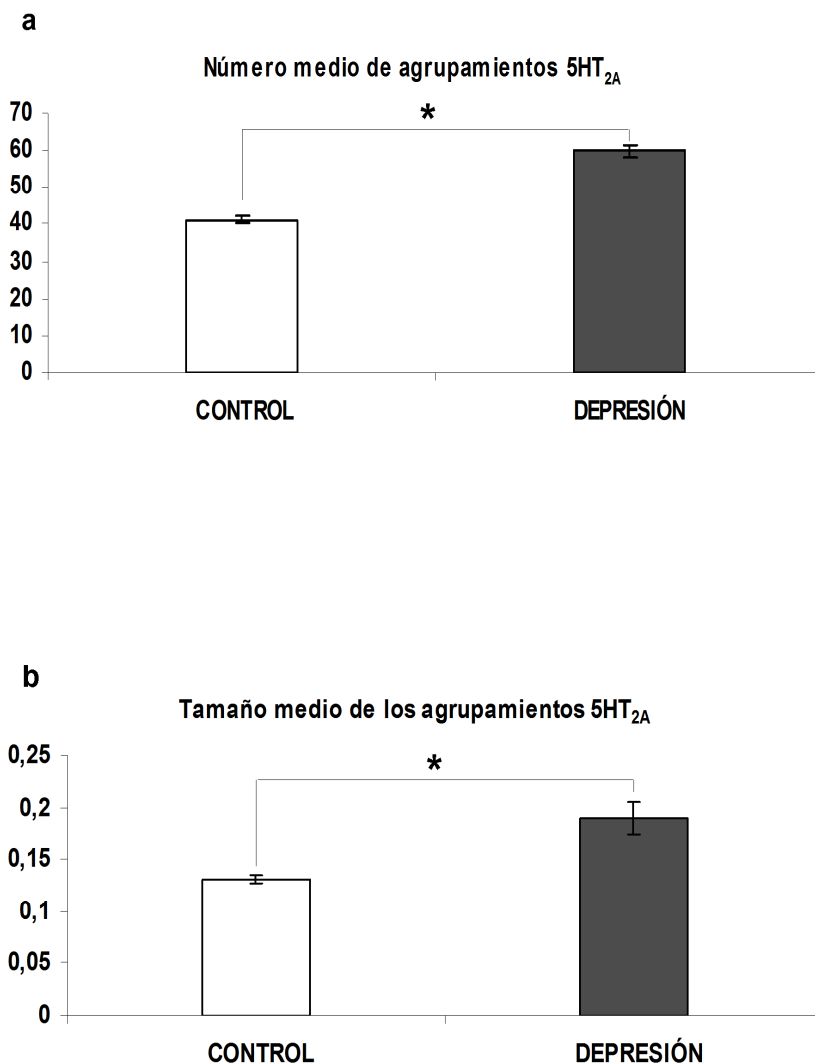
Por último, las **Tablas IV** y **V** muestran las diferencias en el número y tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> correspondientes a cada paciente de la muestra depresiva total, en relación con el tipo de diagnóstico y con el tipo de tratamiento que recibieron antes del inicio del tratamiento antidepresivo. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las medidas de la muestra, ni en relación con la historia de episodios de depresión mayor, ni debido al tipo de tratamiento prescrito.



**Figura 1.** Inmunofluorescencia para el receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub>, en linfocitos humanos. Los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos aparecen asociados principalmente con la membrana plasmática, aunque algunos grupos 5-HT<sub>2A</sub> pueden corresponder a las membranas de las vesículas intracitoplasmáticas: **(a)** linfocito de un sujeto control, agrupamientos bien definidos; **(b)** linfocito de un paciente depresivo, agrupamientos claramente definidos. Las figuras **c** y **d** muestran el análisis del número y tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> en los linfocitos de las figuras **a** y **b**, respectivamente. Las figuras **e** y **f** representan los gráficos de superficie de las figuras **a** y **b**, mostrando la intensidad de la inmunofluorescencia del marcaje 5-HT<sub>2A</sub> en los linfocitos.



**Figura 2.** Inmunofluorescencia para el receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en linfocitos humanos. El inmunomarcaje aparece únicamente en una subpoblación de linfocitos representada por el 50% del total de la población linfocitaria, aproximadamente. Los linfocitos que no muestran inmunomarcaje para 5-HT<sub>2A</sub> aparecen señalados con un asterisco (\*).



**Figura 3.** Efecto del estado depresivo sobre el número (a) y el tamaño (b) medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos en linfocitos. El número y el tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> aumentan significativamente (\*) en los pacientes depresivos con respecto al grupo control. Los datos se representan como medias±ESM.



**Tabla IV.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de diagnóstico (antes del inicio del tratamiento).

	<b>Número de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> -positivos</b>	<b>Tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> -positivos</b>
<b>Episodio único</b>	48,60±6,33	0,21±0,03
<b>Episodio recidivante</b>	54,08±2,91	0,18±0,02
<b>Test t de Student</b>	<b>t(-0,855); p&gt;0,388</b>	<b>t(0,504); p&gt;0,620</b>

**Tabla V.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de tratamiento psicofarmacológico (antes del inicio del tratamiento).

	<b>Número de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> -positivos</b>	<b>Tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> -positivos</b>
<b>Monoterapia antidepresiva Antidepresivo</b>	39,6	0,13
<b>+ Ansiolítico (AD+ANS) Antidepresivo</b>	50,24±3,84	0,22±0,03
<b>+ Antipsicótico (AD+AP) Antidepresivo</b>	56,79±4,30	0,18±0,03
<b>+ Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	60,30±2,98	0,15±0,006
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(1,293); p&gt;0,311</b>	<b>F(0,856); p&gt;0,484</b>

**Nota:** Los datos referentes al tratamiento con monoterapia antidepresiva no muestran error asociado a la media debido a que sólo existe un paciente en la muestra al que se le prescribió este tipo de terapia psicofarmacológica.

#### 4.2.2. *Distribución del tamaño de los agrupamientos de 5HT<sub>2A</sub>-positivos en linfocitos de individuos control y depresivos.*

La representación gráfica de la distribución del tamaño de los agrupamientos mostró un pico modal entre 0,05-0,10  $\mu\text{m}^2$  en ambos grupos, control y depresivo. Este pico reflejó la existencia de una distribución unimodal sesgada representada en todos los individuos control y en una gran parte de los individuos depresivos por más del 35% del número total de agrupamientos. Sin embargo, también se observó que un conjunto de pacientes (sobre el 40% del total de la población depresiva), a pesar de mostrar su pico máximo para el tamaño entre 0,05-0,10  $\mu\text{m}^2$ , éste estuvo representado por menos del 25% del número total de agrupamientos (**Figura 4a, b y c**).

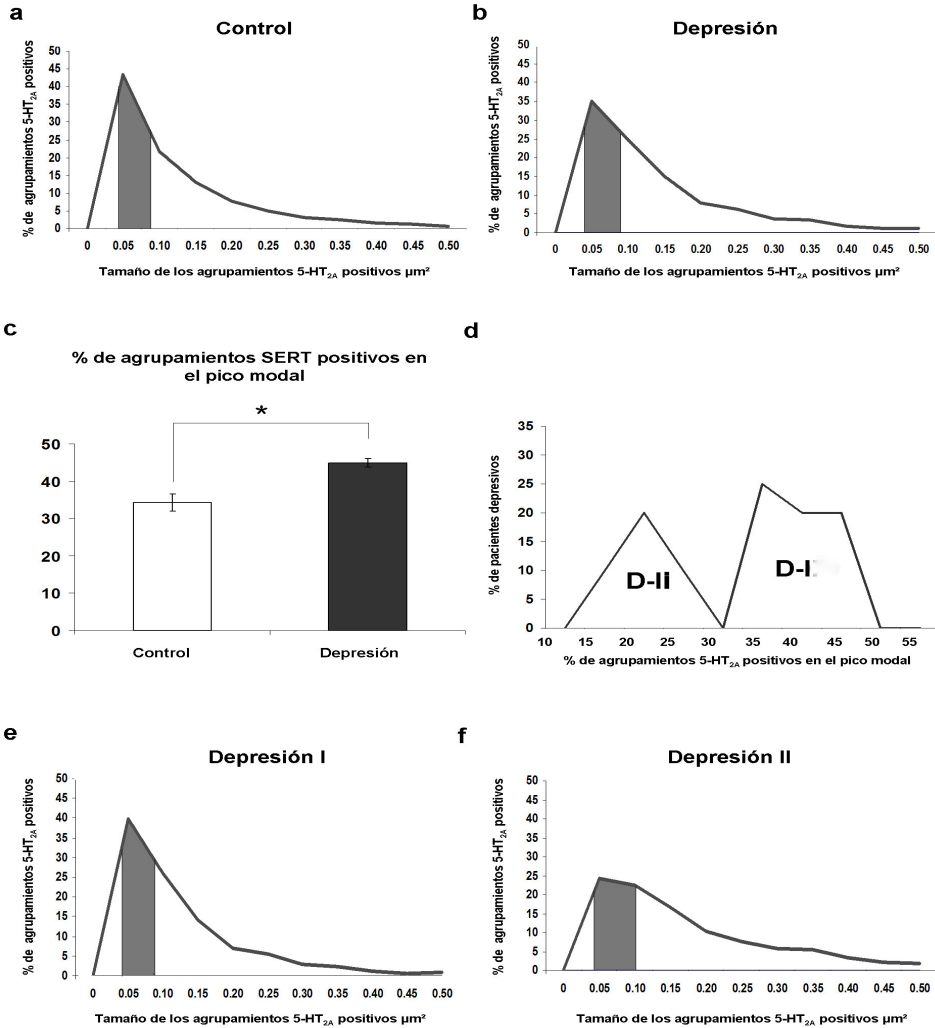
De este modo la existencia de dos subpoblaciones diferentes de pacientes depresivos, descrita para el transportador SERT, en relación con las diferencias en la distribución de los agrupamientos SERT-positivos, se observó de nuevo al estudiar las alteraciones en la agrupación del receptor 5HT<sub>2A</sub>. Se observó la misma distribución bimodal de la población depresiva que verificó la posible existencia de dos subgrupos diferentes de pacientes depresivos en términos biológicos (**Figura 4d**). Para comprobar si estas diferencias correlacionaban con las medidas clínicas se distinguieron los dos subgrupos depresivos: D-I, formado por los pacientes con un pico modal por encima del 35%, y D-II, formado por aquellos pacientes con un pico modal inferior al 30% (un poco por debajo del 35% para poder discriminarlo adecuadamente del grupo control (**Figura 4e y 4f**)).

Lo más llamativo en relación con la existencia de dos subpoblaciones de pacientes depresivos fue que el mismo criterio, la distribución en el tamaño de los agrupamientos, en relación con SERT o con el receptor 5HT<sub>2A</sub>, permitió discriminar ambos subgrupos y, en mayor medida, que exactamente los mismos pacientes que formaron parte del subgrupo D-I y D-II en el estudio de SERT fueron los que formaron parte de los subgrupos D-I y D-II en el estudio del receptor 5HT<sub>2A</sub>. Los subgrupos D-I y D-II estarían compuestos por los mismos sujetos, con la salvedad de que el subgrupo D-I en este estudio estuvo formado únicamente por 12 de los 30 pacientes que lo formaron en el estudio de SERT, debido a que la población depresiva total se vio reducida de 38 a 20 sujetos y afectó sólo al subgrupo D-I. Los 8 pacientes del subgrupo D-II si se mantuvieron. En la **Tabla III** se pueden observar los pacientes que conformaron cada subgrupo. Los pacientes de subgrupo D-II se corresponden con los casos 1,2,3,4,5,7,14 y 15 (en el **Capítulo II**, estos pacientes se corresponden con los casos 1,2,3,4,5,8,17,18; varían los casos por que algunos casos no formaron parte de este estudio).

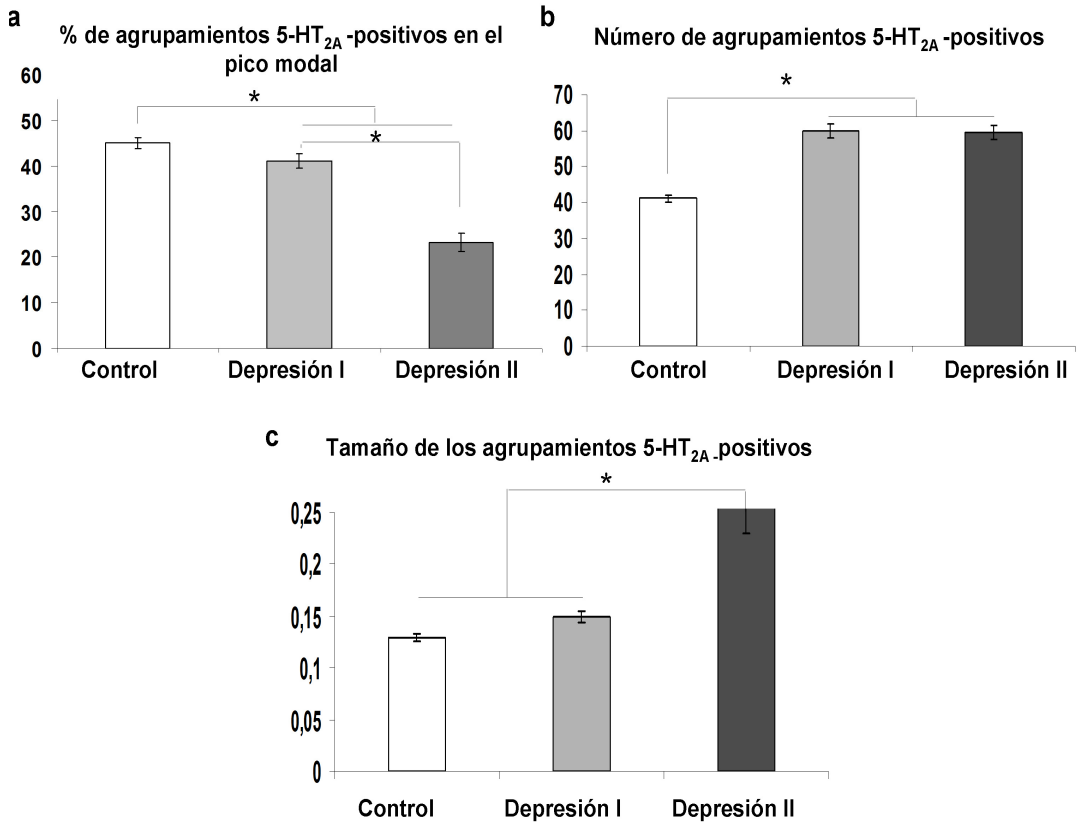
**4.2.3. Subgrupos depresivos D-I y D-II: análisis de las diferencias en la agrupación del receptor 5HT<sub>2A</sub> en linfocitos de pacientes no tratados.**

Se analizaron las diferencias en el % de agrupamientos 5HT<sub>2A</sub> en el intervalo modal y en el número y en el tamaño de los agrupamientos de 5HT<sub>2A</sub> entre el grupo control y los subgrupos depresivos (D-I y D-II). El análisis de la varianza con la prueba Anova de una cola, reveló un efecto estadísticamente significativo del “*subgrupo depresivo*” (D-I o D-II) sobre el % de agrupamientos 5HT<sub>2A</sub> en el pico modal [F(2)= 42,881; p<0,001], el número medio de agrupamientos SERT-positivos [F(2)=29,75; p<0,001] y sobre el tamaño medio de los agrupamientos [F(2)=21,98; p<0,001]. El % de agrupamientos modal fue de 44,95±1,15; 41,03±1,58 y 23,29±1,99, para el grupo control, D-I y D-II respectivamente. El número medio de agrupamientos fue de 41,1±0,9 para el grupo control; 59,99±2,3 para D-I y 59,04±2,1 para D-II. Y el tamaño medio de los agrupamientos fue de 0,13±0,004; 0,15±0,006 y 0,27±0,04 para el grupo control, D-I y D-II respectivamente.

El análisis posterior, comparando los tres grupos entre sí, mediante la corrección de Bonferroni mostró que, el % de agrupamientos 5HT<sub>2A</sub> en el intervalo modal fue significativamente más alto en el grupo control que en el subgrupo D-I (p<0,05) y D-II (p<0,001) y, también, significativamente más alto en D-I que en D-II (p<0,001) (**Figuras 5a**). En referencia al número medio de agrupamientos, tanto D-I como D-II se diferenciaron significativamente del grupo control con una diferencia de 18,2 (p<0,001) y 17,3 (p<0,001) respectivamente, sin existir diferencias entre los subgrupos depresivos (p>0,9). El número medio de agrupamientos entre los subgrupos fue muy similar, pero mucho mayor que el de la población control (**Figura 5b**). Mientras que, respecto al tamaño de los agrupamientos, las diferencias estadísticamente significativas tuvieron lugar entre el grupo control y D-II, con una diferencia de 0,14 (p<0,001), y entre el grupo D-I y D-II, con una diferencia de 0,12 (p<0,001), pero no entre el grupo control y D-I (p>0,965). El tamaño medio de los agrupamientos en D-I fue similar al control, pero mucho más pequeño que el del subgrupo D-II (**Figura 5c**).



**Figura 4.** Representación gráfica de la distribución del tamaño de los agrupamientos 5HT<sub>2A</sub>-positivos en la población control (a) y en la población depresiva total (b). Todos los sujetos del grupo control y la mayoría de los pacientes depresivos muestran un pico modal entre 0,05-0,10 μm<sup>2</sup> representado por más del 35% de los agrupamientos. Sin embargo, algunos pacientes de la población depresiva total mostraron un pico modal representado sólo por el 20-25% de sus agrupamientos, dando lugar a una distribución bimodal en relación con el porcentaje de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> positivos que cada paciente presentó en el pico modal (d). En la población depresiva se observaron nuevamente los dos subgrupos de pacientes, Depresión I (e) formado por los pacientes con un pico modal del 35% en el intervalo de tamaño entre 0,05-0,10 μm<sup>2</sup> y Depresión II (f) con los pacientes que no alcanzaron un pico modal superior al 25% en el intervalo 0,05-0,10 μm<sup>2</sup>.



**Figura 5.** Efecto del estado depresivo sobre el % de agrupamientos en el pico modal (a), el número (b) y el tamaño (c) de los agrupamientos 5HT<sub>2A</sub>-positivos en la población control y en los subgrupos depresivos D-I y D-II. El % de agrupamientos en el intervalo modal es significativamente (\*) mayor en el grupo control que en los subgrupos D-I y D-II, y significativamente (\*) mayor en D-II que en D-I. El número medio de agrupamientos es significativamente (\*) mayor en el subgrupo D-I y D-II respecto al grupo control (con un 50% más de agrupamientos por linfocito), sin embargo, el tamaño medio de los agrupamientos es semejante entre D-I y el grupo control y ambos se diferencian significativamente (\*) del subgrupo D-II (con un aumento del 40%). Los datos se representan en medias grupales ± ESM.

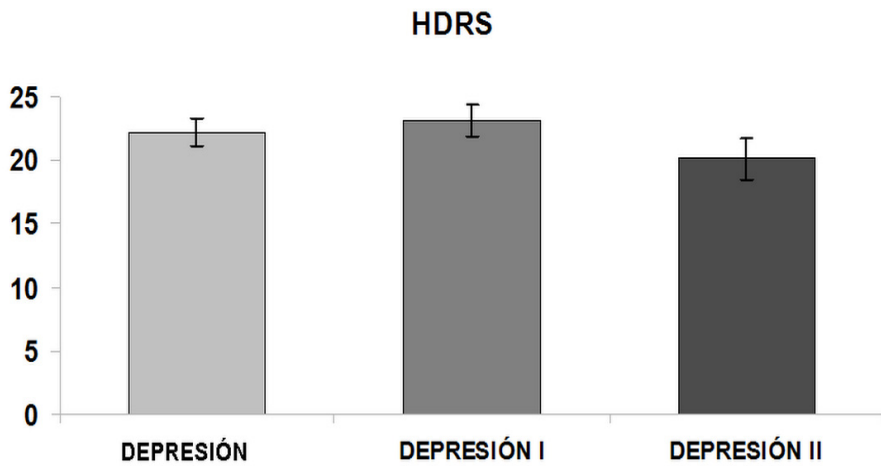
### 4.3. Estudio de las puntuaciones clínicas de la escala HDRS en pacientes depresivos.

#### 4.3.1. *Subgrupos D-I y D-II: análisis de las diferencias en la escala de depresión HDRS en pacientes no tratados.*

Las puntuaciones totales en la escala de depresión HDRS fueron:  $(22,2 \pm 1,09)$ ,  $(23,15 \pm 1,03)$  y  $(20,13 \pm 1,6)$  para la población depresiva total y los subgrupos D-I y D-II, respectivamente (**Figura 6**). Mediante un Anova de una sola cola se obtuvo un valor  $[F(2)=0,874, p>0,49]$ , que mostró la ausencia de diferencias estadísticamente significativas intergrupales en las puntuaciones totales de la escala HDRS antes del inicio del tratamiento. El análisis post-hoc de Bonferroni indicó, también, una diferencia de 0,95 ( $p>0,9$ ) entre el grupo total de depresión y D-I; una diferencia de 1,78 ( $p>0,58$ ) con D-II; y una diferencia de 2,73 ( $p>0,9$ ) entre D-I y D-II.

Se analizaron, también, las diferencias en las puntuaciones de la escala HDRS de cada paciente en relación con el tipo de diagnóstico y el tratamiento psicofarmacológico prescrito a cada uno. No se observaron diferencias en las puntuaciones HDRS ni en relación con el tipo de diagnóstico ni con el tipo de tratamiento (**Tablas VI y VII**).

En primer lugar, se analizó si las puntuaciones totales de la escala HDRS (antes del tratamiento) mostraron diferencias estadísticamente significativas en relación con el tipo de diagnóstico depresivo (episodio único vs. recidivante), la **Tabla VI** indica que las puntuaciones no mostraron variaciones en relación con el diagnóstico recibido por el paciente, y en segundo lugar, la posible relación entre las puntuaciones totales de HDRS con el tipo de tratamiento psicofarmacológico prescrito, la **Tabla VII** indica que no hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en las puntuaciones totales debido al tipo de tratamiento.



**Figura 6.** Puntuaciones totales en la Escala de Depresión de Hamilton para la población depresiva total y para los subgrupos depresivos D-I y D-II antes del inicio del tratamiento psicofarmacológico. La figura muestra la ausencia de diferencias estadísticamente significativas (\*) entre D-I y D-II. Los datos se representan en medias grupales  $\pm$  ESM.

**Tabla VI.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de diagnóstico (antes del tratamiento).

	HDRS
<b>Episodio único</b>	21,8±1,83
<b>Episodio recidivante</b>	22,33±1,35
<b>Test t de Student</b>	<b>t(-0,206); p&gt;0,839</b>

**Tabla VII.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de tratamiento psicofarmacológico (antes del tratamiento)

	HDRS
<b>Monoterapia antidepressiva</b>	20
<b>Antidepressivo+Ansiolítico (AD+ANS)</b>	22,58±1,08
<b>Antidepressivo+Antipsicótico (AD+AP)</b>	21±4,04
<b>Antidepressivo+Estabilizador del estado de ánimo(AD+EA)</b>	22,5±3,98
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(0,136); p&gt;0,937</b>



**4.3.2. Correlaciones entre las puntuaciones HDRS y los parámetros biológicos en los individuos depresivos no tratados.**

El análisis correlacional entre las puntuaciones totales de la escala HDRS y los parámetros biológicos, número y tamaño medio de los agrupamientos, no revelaron ninguna correlación estadísticamente significativa entre las variables clínicas y los parámetros biológicos ni en la población depresiva total ni en el subgrupo D-I, sin embargo, la asociación entre estas variables si se observó para el subgrupo D-II, donde se obtuvo una correlación estadísticamente significativa entre el número de agrupamientos y las puntuaciones totales de las escala HDRS. Cuanto mayor es el número de agrupamientos mayor es la puntuación total en la escala HDRS.

**Tabla VIII.** Correlaciones entre los parámetros clínicos y biológicos, antes del tratamiento.

		<b>HDRS</b>		
		<b>Depresión</b>	<b>Depresion I</b>	<b>Depresión II</b>
<b>Número de agrupamientos</b>	Correlación de Pearson	-0,217	- 0,045	<b>0,857*</b>
<b>SERT-positivos</b>	Sig. (bilateral)	0,358	0,884	0,014
<b>Tamaño de los agrupamientos</b>	Correlación de Pearson	- 0,136	0,011	0,167
<b>SERT-positivos</b>	Sig. (bilateral)	0,568	0,973	0,720

\*La correlation es significativa para  $p < 0,05$  (bilateral)

\*\*La correlation es significativa para  $p < 0,01$  (bilateral)

**4.3.3. Subgrupos D-I y D-II: análisis de las diferencias en la escala de depresión HDRS después del tratamiento.**

El efecto del tratamiento psicofarmacológico sobre las puntuaciones totales de la escala de depresión HDRS tras un periodo de 8 semanas se observó en los tres grupos de depresión con una tendencia similar. Las puntuaciones se redujeron hasta en un 50% para la muestra depresiva

total ( $9,9 \pm 1,3$ ) y para el subgrupo D-I ( $11,58 \pm 1,5$ ) e incluso, en un 75% para el subgrupo D-II ( $6,25 \pm 1,5$ ). La comparación de las medias antes/después del tratamiento mediante el test t de Student para muestras relacionadas confirmó un efecto significativo del tratamiento sobre el índice clínico de depresión:  $[t(19) = 8,628, p < 0,001]$  para DT;  $[t(12) = 6,628, p < 0,001]$  para D-I y  $[t(7) = 5,297, p < 0,001]$  para D-II (Figura 7a).

Se ha mencionado que el efecto del tratamiento dio lugar a un cambio similar para los tres grupos de depresión, sin embargo, ese efecto no resultó igualmente intenso en los tres casos. El análisis comparativo mostró diferencias intergrupales significativas  $[F(2) = 2,478, p < 0,05]$  y la corrección posterior con el test de Bonferroni confirmó que, si bien el tratamiento redujo las puntuaciones en la población depresiva total y en D-I en una proporción semejante  $[p > 0,282]$ , en el subgrupo D-II la respuesta al tratamiento fue mayor en comparación con D-I  $[p < 0,02]$ . Además, la puntuación media (6,25) del subgrupo D-II, no sólo indicó una respuesta al tratamiento sino remisión de los síntomas depresivos, siendo  $< 7$ , en este grupo (ver Discusión) (Figura 7b)

Además, las **Tablas IX** y **X** muestran que no hubo diferencias significativas en la respuesta a la escala clínica HDRS ni en relación con el diagnóstico, episodio único o recidivante, ni con el tipo de tratamiento psicofarmacológico recibido por cada paciente, ni antes ni después del tratamiento. Sin embargo, el tiempo de tratamiento sí tuvo un efecto claro sobre las puntuaciones HDRS, en todos los casos las puntuaciones disminuyen significativamente con los fármacos, independientemente del tipo que sean.

**Tabla IX.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de diagnóstico y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>HDRS</b>		
	<b>Naïve</b>	<b>Tratamiento</b>	
<b>Episodio único</b>	21,8±1,83	11,4±1,91	
<b>Episodio recidivante</b>	22,33±1,35	9,4±1,66	
<b>Prueba F de Anova de dos vías</b>	<i>Diagnóstico</i>		<b>F(0,131);p&gt;0,720</b>
	<i>Tiempo</i>		<b>F(33,08);p&gt;0,000</b>
	<i>Diagnóstico*Tiempo</i>		<b>F(0,390);p&gt;0,536</b>

**Tabla X.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala HDRS según el tipo de tratamiento y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>HDRS</b>		
	<b>Naïve</b>	<b>Tratamiento</b>	
<b>Monoterapia antidepressiva</b>	20	12	
<b>Antidepressivo + Ansiolítico (AD+ANS)</b>	22,58±1,08	9,9±1,9	
<b>Antidepressivo + Antipsicótico (AD+AP)</b>	21±4,04	9,49±1,73	
<b>Antidepressivo + Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	22,5±3,98	10±3,58	
<b>Prueba F de ANOVA de dos vías</b>	<i>Tratamiento</i>		<b>F(0,076); p&gt;0,972</b>
	<i>Tiempo</i>		<b>F(17,66); p&gt;0,000</b>
	<i>Tratamiento*Tiempo</i>		<b>F(0,099); p&gt;0,960</b>

#### 4.4. Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento.

Después de 8 semanas de tratamiento se observaron cambios estadísticamente significativos sobre el % de agrupamientos de 5-HT<sub>2A</sub> en el intervalo modal en la población depresiva total ( $34,39 \pm 1,22$ ); [ $t(37) = -2,254$ ;  $p < 0,03$ ], y en el subgrupo D-II ( $35,33 \pm 2,7$ ); [ $t(7) = -3,262$ ;  $p < 0,01$ ], pero no hubo un efecto significativo del tratamiento en el subgrupo D-I ( $41,73 \pm 0,66$ ); [ $t(11) = -0,404$ ;  $p < 0,693$ ] (**Figura 8a, d y g**). El análisis intergrupar reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas [ $F(2) = 3,674$ ,  $p < 0,03$ ] y la prueba post hoc confirmó que las diferencias tuvieron lugar entre D-I y D-II ( $p < 0,03$ ) pero no entre la población depresiva total y D-I ( $p > 0,659$ ) y entre la población depresiva total y D-II ( $p > 0,2$ ) (**Figura 8j**).

Respecto al número medio de agrupamientos, éste se redujo significativamente tanto en la población depresiva total ( $42,97 \pm 1,14$ ) ( $p < 0,001$ ), como en los subgrupos D-I ( $44,39 \pm 1,09$ ) ( $p < 0,001$ ) y D-II ( $40,31 \pm 2,32$ ) ( $p < 0,001$ ), con una disminución aproximada del 45% (**Figura 8b, e y h**). El análisis comparativo de los grupos mostró la ausencia de diferencias estadísticamente significativas [ $F(2) = 0,534$ ,  $p > 0,591$ ], llegando a desaparecer la diferencia inicial que existía entre la población depresiva total, D-I y D-II respecto al grupo control, los tres grupos presentaron un número de agrupamientos similar al control ( $41,1 \pm 0,9$ ) al final del estudio (**Figura 8k**).

Por último, el tamaño de los agrupamientos también disminuyó después de las 8 semanas de tratamiento y en los tres casos esa reducción fue significativa: en la población depresiva total ( $0,14 \pm 0,006$ ) ( $p < 0,04$ ), con una reducción del 27%, en el subgrupo D-I ( $0,13 \pm 0,004$ ) ( $p < 0,01$ ), con una reducción del 14%, y en el subgrupo D-II ( $0,17 \pm 0,01$ ) ( $p < 0,03$ ), con una reducción del 37% (**Figura 8 c, f y i**). Sin embargo, en este caso las diferencias intergrupales continuaron estando presentes [ $F(2) = 5,306$ ,  $p < 0,009$ ], persistiendo la disparidad que existía antes del tratamiento entre el subgrupo D-I y D-II ( $p < 0,007$ ). El tratamiento tuvo efecto sobre el tamaño de los agrupamientos en el subgrupo D-I que ya mostraba un tamaño semejante al de la muestra control antes del tratamiento, sin embargo, en el subgrupo D-II el tamaño también se redujo en gran medida pero no llega a ser similar al del grupo control (**Figura 8l**).

Las **Tablas XI y XII** muestran las posibles variaciones en el número y tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos en relación con el tipo de diagnóstico y el tipo de tratamiento psicofarmacológico. Ninguno de los dos factores tuvieron un efecto significativo sobre los parámetros biológicos ni antes ni después del tratamiento, únicamente el tiempo de tratamiento afectó al número y tamaño de los agrupamientos.

**Tabla XI.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de diagnóstico y el tiempo de tratamiento (antes y después).

		Número de agrupamientos		Tamaño de los	
		5-HT <sub>2A</sub> -positivos		agrupamientos	
				5-HT <sub>2A</sub> -positivos	
		Naïve	Tratamiento	Naïve	Tratamiento
<b>Episodio único</b>		48,60±6,33	42,74±1,27	0,21±0,03	0,15±0,02
<b>Episodio recidivante</b>		54,08±2,91	43,77±1,51	0,18±0,02	0,14±0,01
<b>Anova de dos vías</b>	<i>Diagnóstico</i>	<b>F(2,738);p&lt;0,107</b>		<b>F(0,434);p&lt;0,514</b>	
	<i>Tiempo</i>	<b>F(4,466);p&lt;0,005</b>		<b>F(4,112);p&lt;0,01</b>	
	<i>Diagnóstico*Tiempo</i>	<b>F(0,026);p&lt;0,874</b>		<b>F(0,075);p&lt;0,786</b>	

**Tabla XII.** Diferencias en los parámetros biológicos según el tipo de tratamiento y el tiempo de tratamiento (antes y después).

		Número de agrupamientos		Tamaño de los agrupamientos	
		5-HT <sub>2A</sub> -positivos		5-HT <sub>2A</sub> -positivos	
		Naïve	Tratamiento	Naïve	Tratamiento
<b>Monoterapia antidepressiva</b>		39,6	43,62	0,13	0,13
<b>Antidepressivo + Ansiolítico (AD+ANS)</b>		50,24±3,84	44,38±1,13	0,22±0,03	0,15±0,01
<b>Antidepressivo + Antipsicótico (AD+AP)</b>		56,79±4,30	40,28±1,23	0,18±0,03	0,13±0,01
<b>Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>		60,30±2,98	43,32±4,96	0,15±0,006	0,14±0,01
<i>Tratamiento</i>		<b>F(0,599);p&lt;0,657</b>		<b>F(0,653);p&lt;0,587</b>	
<i>Tiempo</i>		<b>F(5,466); p&gt;0,02</b>		<b>F(5,274); p&gt;0,02</b>	
<i>Tratamiento*Tiempo</i>		<b>F(0,472);p&lt;0,704</b>		<b>F(0,413);p&lt;0,745</b>	

**Nota:** Los datos referentes a antes del tratamiento no se incluyen en la tablas por falta de espacio pero aparecen recogidos en la Tabla IV y V. Asimismo, los datos referentes al tratamiento con monoterapia antidepressiva no muestran error asociado a la media debido a que sólo existe un paciente en la muestra al que se le prescribió este tipo de terapia psicofarmacológica.

**4.4.1. Correlaciones entre HDRS y los parámetros biológicos después del tratamiento.**

Después de 8 semanas de tratamiento psicofarmacológico el análisis de correlaciones indicó que no hubo ninguna correlación estadísticamente significativa entre el número y tamaño medio de los agrupamientos y las puntuaciones de la escala HDRS para ninguno de los grupos de depresión. Aunque los parámetros biológicos, número y tamaño medio de los agrupamientos, disminuyeron significativamente en la población depresiva total, D-I y D-II, y también las puntuaciones clínicas se redujeron significativamente en los tres grupos, las correlaciones no fueron estadísticamente significativas.

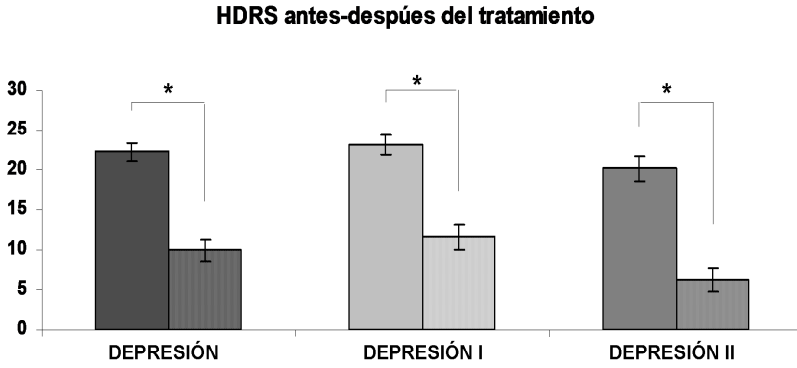
**Tabla XIII.** Correlaciones entre los parámetros clínicos y biológicos, después del tratamiento.

		<b>HDRS</b>		
		<b>Depresión</b>	<b>Depresion I</b>	<b>Depresión II</b>
<b>Número de agrupamientos SERT-positivos</b>	Correlación de Pearson	0,320	0,135	0,634
	Sig. (bilateral)	0,169	0,659	0,126
<b>Tamaño de los agrupamientos SERT-positivos</b>	Correlación de Pearson	-0,269	0,367	-0,546
	Sig. (bilateral)	0,252	0,217	0,205

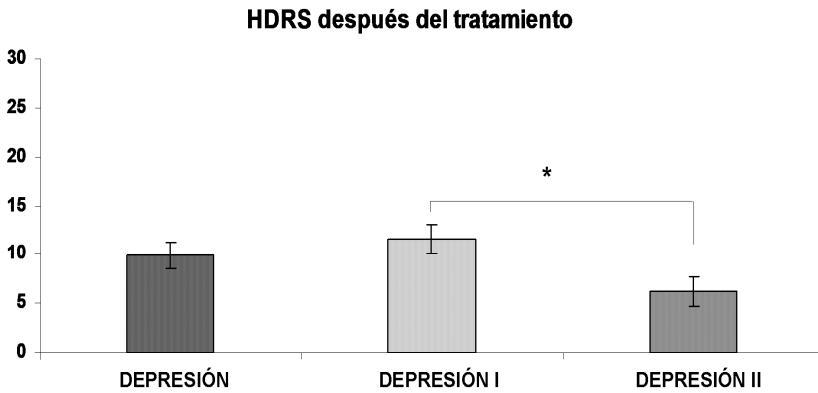
\*La correlación es significativa para  $p < 0,05$  (bilateral)

\*\*La correlación es significativa para  $p < 0,01$  (bilateral)

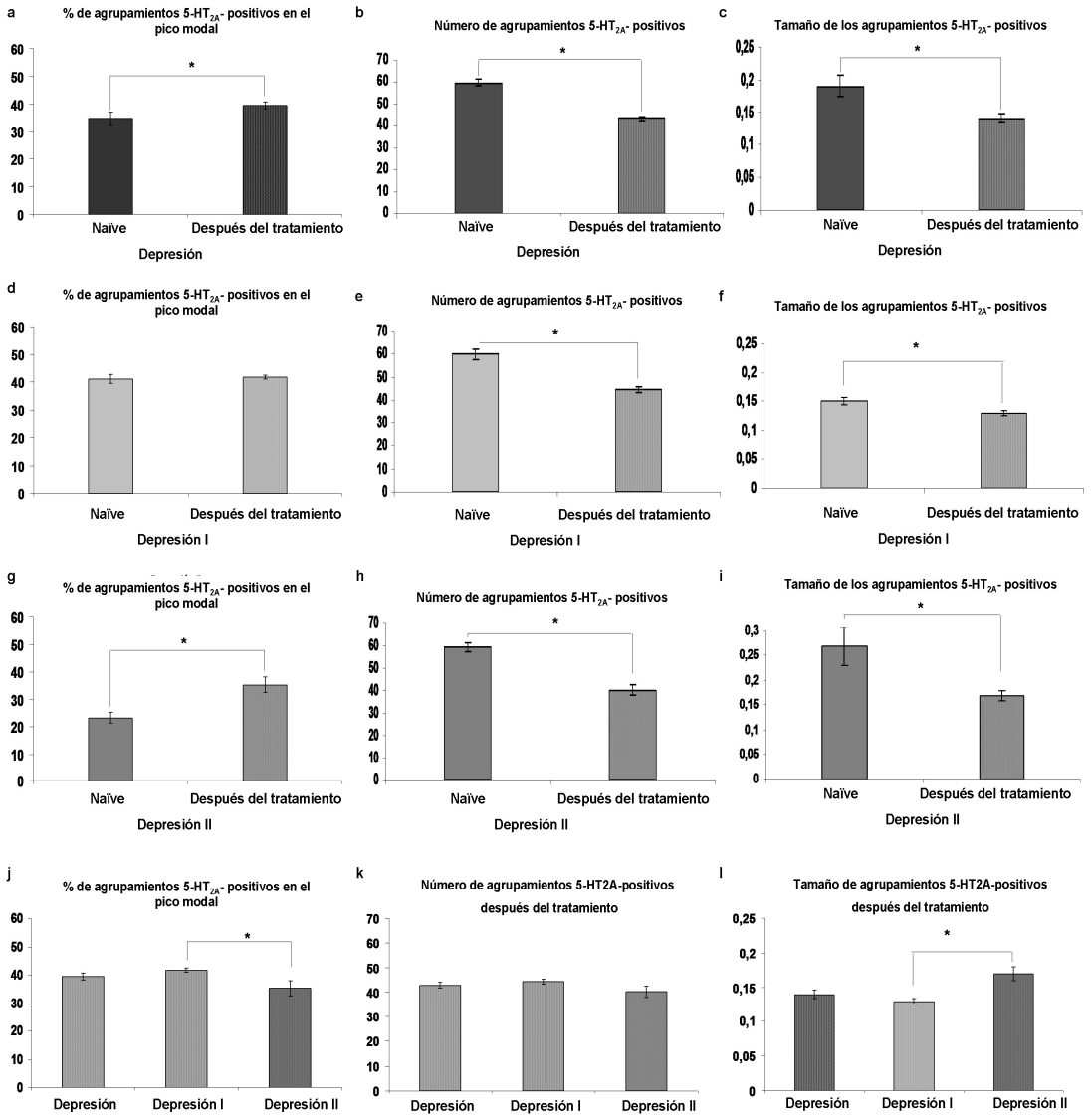
a



b



**Figura 7.** Efecto del tratamiento psicofarmacológico sobre las puntuaciones totales de la escala HDRS en la población depresión total y en los subgrupos D-I y D-II. Tras ocho semanas de tratamiento se observa una disminución estadísticamente significativa (\*) de las puntuaciones totales en la escala HDRS para los tres grupos de estudio que aparece reflejada en el análisis comparativo intragrupal (a). La disminución en la puntuación total fue mayor para el subgrupo D-II que para la población depresiva total y el subgrupo D-I, con una reducción significativamente (\*) mayor en D-II respecto a D-I (b). Los datos se expresan en medias grupales±ESM.



**Figura 8.** Representación gráfica del efecto del tratamiento psicofarmacológico sobre el % de agrupamientos modal, el número y el tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos. Se observa un incremento estadísticamente significativo (\*) en el % de agrupamientos en el pico modal (a, d, g) en la población depresiva total y en D-II, persistiendo la diferencia entre D-I y D-II (j). El número (b, e, h) y el tamaño (c, f, i) de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos disminuye significativamente en los tres grupos de depresión, existe una respuesta positiva al tratamiento tanto en la población depresiva total, como en el subgrupo D-I y D-II. Las diferencias intergrupales desaparecen en relación al número medio de agrupamientos (k), aunque el tamaño continúa siendo significativamente mayor en D-II respecto a D-I y a la población depresiva total (l).



### C. Discusión

Nuestros resultados han mostrado que sólo una subpoblación de linfocitos (representada por el 50% de la población total de linfocitos) expresan un marcaje positivo para los agrupamientos del receptor 5-HT<sub>2A</sub> de serotonina. Son diversos los estudios que indican, farmacológicamente, la presencia de receptores 5-HT<sub>2A</sub> en linfocitos (Silverman y col., 1985; Sternberg 1986; Hellstrand y Hermodsson, 1993) y su papel estimulador en la activación de células T (Van Loveren y col., 1985; Ameisen y col., 1989; Young y col., 1993; Laberse y col., 1996). Sin embargo, los datos sobre la expresión de los distintos subtipos de receptores de serotonina en linfocitos y sus funciones de señalización todavía no son muy claros. Mediante análisis de RT-PCR y western blotting se ha confirmado la expresión de 5-HT<sub>2A</sub> en linfocitos T (CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>) (Stefulj y col., 2000; Inoue y col., 2011). Inoue y col. (2011) han detectado, mediante estas técnicas, tanto ARNm como la proteína del receptor 5-HT<sub>2A</sub> en linfocitos en condiciones de reposo y en linfocitos T activados, considerando el receptor un componente constitutivo de los linfocitos T. Previamente, otros autores (León-Ponte y col. 2007; Ahern y col., 2010) habían señalado la presencia de ARNm y de la proteína del receptor 5-HT<sub>2A</sub> sólo después de la activación de las células T, sin detectar productos genéticos en linfocitos naïve. Otros receptores de serotonina implicados en la activación de células T son 5-HT<sub>1B</sub> (Ying y col., 2006) y 5-HT<sub>1A</sub> (Kushnir-Sukhov, 2006), a los que se les ha otorgado el papel dominante en la activación de linfocitos. Y, se ha demostrado la presencia de SERT en linfocitos CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, en un cierto subtipo de estos linfocitos T que alcanza alrededor del 20% de la población total en los sujetos controles y el 15% en los pacientes deprimidos (Lima y col., 2005), sin embargo, las células específicas que lo expresan no han sido identificadas. Parece, por tanto, que la presencia de los receptores de serotonina, en concreto el 5-HT<sub>2A</sub> es fundamental en la proliferación y activación de los linfocitos, pero serán necesarias técnicas genéticas más precisas para determinar que subtipos de receptores se encuentran en cada célula y su funcionalidad, la presencia de SERT y 5-HT<sub>2A</sub> en células CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> parece indicar que es posible que existan distintos subtipos de receptores en los linfocitos.

Respecto al análisis del número y tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos, en primer lugar cabe señalar que el número medio de agrupamientos en el grupo control (41,1±0,9) fue menor al que veíamos en SERT (53,4±2,2).

En segundo lugar, los datos mostraron que en los pacientes con TDM se producen alteraciones en la agrupación del receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en la membrana plasmática de

los linfocitos, con un aumento en el número y el tamaño de medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos respecto a la población control, que disminuyen tras ocho semanas de tratamiento antidepressivo. Estos resultados concuerdan con los descritos por Van Oekelen y col. (2003) quienes observaron que en pacientes deprimidos existía una hipersensibilidad de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> tanto en tejido cerebral como en plaquetas, Shelton y col. (2009) que observaron un incremento en la densidad de los lugares de unión a estos receptores en pacientes deprimidos, y por Stanley y Mann (1983), Arora y Meltzer (1989), Pandey y col. (2002) y Rosel y col. (2004) que describieron un aumento de la unión a receptores 5-HT<sub>2A</sub> en los trastornos del estado de ánimo y la esquizofrenia ha sido estudiado en numerosas ocasiones mediante técnicas de “binding” (Pandey y col., 1990; Pandey, 1997; Mendelson, 2000; Meyer y col., 2001), y los resultados indican que en depresión existe un incremento en la unión al receptor 5-HT<sub>2A</sub> (B<sub>max</sub>) en pacientes sin tratamiento que disminuye después del tratamiento antidepressivo, llegando a alcanzar niveles semejantes a los del grupo control (Meyer y col., 2001). Asimismo, en pacientes esquizofrénicos sin tratamiento se ha descrito un aumento en la unión a los receptores 5-HT<sub>2A</sub> que disminuía significativamente con el tratamiento antipsicótico (Pandey y col., 1993; Arranz y col., 2003; Singh y col., 2003). Ambos, tratamientos, antidepressivo y antipsicótico, parecen tener un efecto común, regulando a la baja los receptores 5-HT<sub>2A</sub>. En general, se sabe que el tratamiento antidepressivo regula a la baja los receptores 5-HT<sub>2A</sub> (Peroutka y Snyder, 1980; Blackshear y Sanders-Bush, 1982; Goodwin y col., 1990; Yamauchi y col., 2006) y se ha especulado que la regulación selectiva a la baja de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> por sí misma produce efectos de tipo antidepressivo (Sibille y col., 1997; Celada y col., 2004). El antagonismo de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> es el mecanismo antidepressivo que se encuentra detrás de la eficacia clínica de los fármacos de primera línea de acción dual: antagonistas de la serotonina 2A e ISRS, nefazodona y trazodona, (Taylor y col., 1995; Smeraldi y col., 1998; Dursun y col., 2002; Gelenberg y col., 2003) y de los antidepressivos serotoninérgicos y noradrenérgicos antagonistas alfa 2, mirtazapina, (Fawcett y Barkin, 1998; Anttila y Leinonen, 2001). Estudios recientes indican que estos fármacos poseen una eficacia comparable a la de los ISRS (Papakostas y Fava, 2007) y que, además, inducen la liberación cortical de dopamina y noradrenalina (Szabo y Blier, 2002; Huang y col., 2006). Sin embargo, los estudios realizados sobre el efecto del tratamiento antidepressivo en los receptores 5-HT<sub>2A</sub> han resultado un tanto contradictorios. Muchos estudios indican que la administración crónica, pero no aguda, de ISRS o IMAOs regulan a la baja los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, debido a que aumentan los niveles de serotonina sináptica (Goodwin y col., 1984; Hall y col., 1984; Sanders-Bush y col., 1989), frente a otros muchos que observaron un efecto contrario o ningún cambio (Peroutka y Snyder, 1980; Stolz y col., 1983; Cadogan y col.,

1993). Respecto a la administración crónica de antidepresivos con actividad antagonistas 2A (incluyendo a los ATC) tanto en estudios in vivo (Kendall y col., 1982; Gandolfi y col., 1984; Sanders-Bush y col., 1987; Klimek y col., 1994; Anji y col., 2001) como in vitro (Toth y Shenk, 1994; Newton y Elliot, 1997; Willins y col., 1999) se observa una regulación a la baja sobre los receptores 5HT<sub>2A</sub>. Una regulación a la baja que en todo caso resulta paradójica o atípica, dado que el efecto esperado sería la regulación al alza e hipersensibilidad del receptor. Una posible explicación, aunque no se ha demostrado, es que se produzca una internalización y degradación lisosomal del receptor. Además, cabe destacar que el mejor ejemplo de la potente eficacia del antagonismo 5-HT<sub>2A</sub> en el tratamiento de la depresión es el uso de antipsicóticos atípicos en combinación con los fármacos antidepresivos en ausencia de respuesta al tratamiento. Los antipsicóticos atípicos disminuyen la densidad de receptores 5-HT<sub>2A</sub> permitiendo que la serotonina pueda frenar menos la liberación de dopamina (Pandey y col., 1993; Arranz y col., 2003; Singh y col., 2003) e inducen una disminución del ARNm del receptor y de la expresión de dicha proteína en el SNC (Willins y col., 1999; Padin y col., 2006; Huang y col., 2007).

A pesar de que en los pacientes con TDM se produce un aumento en el número y el tamaño de medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> - positivos respecto a la población control y que disminuyen tras ocho semanas de tratamiento antidepresivo. En este estudio, como ya observamos con SERT, las alteraciones no ocurren en la misma proporción para todos los pacientes depresivos ni el tratamiento actúa sobre ellos con la misma eficacia. De hecho, las diferencias en el tamaño medio de los agrupamientos por linfocito y las diferencias en la distribución de esos tamaños permitieron diferenciar dos subtipos de pacientes depresivos a nivel biológico: D-I y D-II, al inicio del estudio, y el efecto del tratamiento resultó ser mucho mayor sobre el subgrupo D-II ya que, aunque su número medio de agrupamientos se redujo en un porcentaje semejante al del subgrupo D-I (no hubo diferencias intergrupales en este parámetro antes del tratamiento y tampoco después), el tamaño se redujo mucho más en D-II que en D-I, aunque D-II continuara teniendo un tamaño medio gran grande tras la intervención.

Estos cambios a nivel biológico, coinciden con la disminución de las puntuaciones totales de la escala de depresión HDRS (aunque los subtipos biológicos D-I y D-II no se observaron clínicamente, no hubo diferencias al inicio del estudio en sus puntuaciones medias). Las puntuaciones totales se redujeron tras 8 semanas de tratamiento, pero la disminución fue mucho más significativa en el subgrupo D-II, que mostró una puntuación >7 después del tratamiento, indicando no sólo respuesta al tratamiento sino también una remisión de la sintomatología depresiva. Parece ser que en ambos grupos hay una respuesta al tratamiento pero, además, esa respuesta, el efecto del tratamiento es mayor para el subgrupo D-II.

Por tanto, el tratamiento es más efectivo en el subtipo D-II, el tratamiento tiene más efecto en estos pacientes dado que las alteraciones en la agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> y las puntuaciones en la escala HDRS revierten en mayor nivel.

Los cambios en los parámetros biológicos y clínico, sin embargo, no correlacionaron positivamente. La correlación que observamos antes del tratamiento en el subgrupo D-II entre el aumento en el número de agrupamientos y mayores puntuaciones clínicas no aparece tras el tratamiento, la explicación puede estar en que en este grupo la puntuación media de HDRS se reduce en un 75%, de este subgrupo la mejoría clínica es elevadísima, pero la disminución en el número medio de los agrupamientos es del 45% y quizá en los pacientes en los que más disminuyen las puntuaciones de HDRS no son en los que tiene lugar una mayor reducción del número de agrupamientos (o viceversa).

Las variaciones que se observan en los parámetros biológicos y clínicos parecen indicar que el receptor 5-HT<sub>2A</sub> puede ser un buen biomarcador de eficacia terapéutica.

Por último, las diferencias observadas en relación con la distribución del tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> -positivos entre los sujetos control y los subgrupos D-I y D-II son las mismas que observamos cuando estudiamos el transportador SERT, coinciden exactamente. De nuevo nos encontramos con un subgrupo de pacientes D-I que presenta una distribución unimodal semejante a la del grupo control (el mismo pico modal superior al 35% entre los tamaños 0,05-0,10µm<sup>2</sup>) y un subgrupo DII con una distribución muy sesgada hacia tamaños mayores que presentaron un pico modal inferior al 30% entre 0,05-0,10µm<sup>2</sup>. La población D-I y D-II son idénticas para SERT y 5-HT<sub>2A</sub>, ello podría implicar que una alteración general del mismo parámetro (agrupamiento de proteínas de membrana) podría ser operativo en la fisiopatología del TDM y, a su vez, nos estaría indicando dos alteraciones fisiológicas diferentes y de sentido opuesto en depresión mayor. Contaríamos pues con dos posibles marcadores de eficacia terapéutica que nos permitirían seleccionar los fármacos más adecuados para cada paciente e incluso realizar un pronóstico fiable.

**Capítulo V**

**Alteraciones en la agrupación del  
receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en la  
membrana de linfocitos en relación con la  
Escala de Autoevaluación de la  
Anhedonia  
(EAA)**



## A. Introducción

La anhedonia, como la incapacidad de experimentar placer, es una característica clave de muchos trastornos psiquiátricos como la depresión, la esquizofrenia (Kranz y col., 2010), la enfermedad de Parkinson (Lemke, 2008) y los trastornos por consumo de alcohol y otras sustancias (Martinotti y col., 2008). Más concretamente, en la depresión, las publicaciones más recientes estiman que aproximadamente el 37% de los sujetos diagnosticados con TDM, experimentan anhedonia clínicamente significativa (Peliza y Ferrari, 2009) y que esta experiencia subjetiva parece ser específica de aquellas formas de depresión mayor caracterizadas por una marcada severidad clínica y puntuaciones totales más elevadas en la escala de depresión de Hamilton (HDRS) y en la escala de síntomas negativos (SANS) (Andreasen, 1984).

A pesar de ser un síntoma fundamental de la depresión, el principal tratamiento de elección, los ISRS, no parecen haber mostrado un efecto significativo sobre la anhedonia (Price y col., 2009; Dunlop y Nemeroff, 2007). En consecuencia, la anhedonia se ha relacionado en mayor medida con una disfunción del sistema dopaminérgico y noradrenérgico, y su disminución ha sido atribuida a los antidepresivos que aumentan los niveles de catecolaminas (Nutt y col., 2007). De hecho, Price y col. (2009) señalan incluso que el tratamiento crónico con ISRS podría inducir un aumento en los niveles de serotonina que provocaría no sólo una reducción de las emociones negativas sino también de la capacidad de disfrute y de las experiencias sociales, aficiones e intereses hasta entonces gratificantes.

Sin embargo, el sistema serotoninérgico ocupa un lugar esencial en la modulación de los principales aspectos de procesamiento del placer. La disminución de la capacidad de placer asociada al tratamiento con ISRS vendría dada por la acción inhibitoria de la serotonina sobre los circuitos dopaminérgicos mesolímbicos de la recompensa, principalmente a través de la acción sobre los receptores 5-HT<sub>2A</sub> serotoninérgicos (Kranz y col., 2010).

Por tanto, considerando que los ISRS no parecen ser los fármacos más adecuados para el tratamiento de la anhedonia, que el sistema serotoninérgico posee un papel fundamental en la modulación del placer mediante su conexión con el sistema dopaminérgico, que se trata de un síntoma común en la depresión y la esquizofrenia, y que los antipsicóticos atípicos que muestran una alta afinidad por el receptor 5HT<sub>2A</sub> de serotonina en comparación con el D2 dopaminérgico resultan más eficaces en la reducción de los síntomas negativos de la esquizofrenia como la anhedonia, convierten al receptor 5HT<sub>2A</sub> en una diana interesante para su tratamiento y en un posible biomarcador de depresión que puede ser estudiado de forma invasiva dada su presencia tanto en plaquetas (Mendelson, 2000) como en muestras periféricas de sangre y linfocitos (Padin y col., 2006).

## B. RESULTADOS

### 5.1. Características sociodemográficas y clínicas de los sujetos de estudio

Los grupos de sujetos seleccionados para el estudio fueron los dos grupos reclutados en el estudio anterior, el grupo de 20 pacientes con diagnóstico de TDM y el grupo control formado por 20 individuos control sanos. Los datos relativos a las características demográficas (“edad”, “sexo”, “estado civil”, “situación laboral” y “nivel educativo”, del grupo depresivo y grupo control, y las características clínicas (“diagnóstico”, “tratamiento” y “puntuación media total HDRS”) del grupo depresivo aparecen recogidas en las **Tablas I, y II (Capítulo IV, punto 4.1)**.

Para este estudio se analizaron, además, dentro de las características clínicas las puntuaciones medias totales de la escala de anhedonia EAA y de sus subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO (ver **Anexo 6**) para el grupo depresivo que mostraremos a lo largo de este capítulo.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables sociodemográficas ni en el grupo depresivo ni en el grupo control, lo que indica que ambos grupos fueron muy homogéneos. Además, las diferencias intergrupales también resultaron ser no significativas, siendo los grupos perfectamente comparables entre sí (**Tabla I, Capítulo IV**). En cuanto a las características clínicas de la muestra depresiva (**Tabla II, Capítulo IV**) se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,03$ ) en relación con la historia de episodios depresivos que cada paciente presentaba al inicio del estudio, un 75% de los pacientes mostraron una historia de episodios depresivos mayores múltiples frente al 15% con historia de episodio único. El tipo de diagnóstico no mostró ninguna asociación ni con el sexo ni con la edad. Las diferencias respecto al tipo de tratamiento psicofarmacológico recibido por cada paciente también fueron estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ), la mayoría de los pacientes fueron tratados con dos o más medicaciones combinando fármacos antidepresivos, ansiolíticos, estabilizadores del estado del ánimo y antipsicóticos. La estrategia más frecuente fue la combinación farmacológica de antidepresivos y ansiolíticos, muy por encima de la monoterapia antidepresiva y del resto de combinaciones preescritas (**Tabla II, Capítulo IV**). Para una descripción más detallada del tratamiento asignado a cada paciente ver **Tabla III, Capítulo IV**.



## 5.2. Estudio de la expresión del receptor de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> en la membrana de linfocitos en individuos control y depresivos.

Como se describió en el **Capítulo IV (punto 4.2.1)** los pacientes depresivos mostraron alteraciones en la agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> de serotonina con respecto al grupo de sujetos control. En la población depresiva total observamos un incremento estadísticamente significativo [ $p < 0,001$ ] del 50% en el número medio de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos ( $59,8 \pm 1,44$ ) y un incremento estadísticamente significativo [ $p < 0,01$ ] del 40% en el tamaño medio ( $0,19 \pm 0,06 \mu\text{m}^2$ ) en relación con el grupo control ( $41,1 \pm 0,9$ ) y ( $0,13 \pm 0,004 \mu\text{m}^2$ ), respectivamente (ver **Figura 3a y 3b, Capítulo IV**). El subgrupo depresivo D-I se caracterizó por un número medio de agrupamientos ( $59,99 \pm 2,3$ ) significativamente [ $p < 0,001$ ] mayor al del grupo control y similar [ $p > 0,9$ ] al de la población total y al subgrupo D-II [ $p > 0,9$ ], y por un tamaño medio ( $0,15 \pm 0,006$ ) semejante al del grupo control y al de la población depresiva total [ $p > 0,9$ ] y significativamente [ $p < 0,001$ ] inferior al del subgrupo D-II. Por su parte, el subgrupo depresivo D-II mostró un número medio de agrupamientos similar al de la población depresiva total y al de D-I [ $p > 0,9$ ] y estadísticamente superior al del grupo control [ $p < 0,001$ ], y un tamaño medio de los agrupamientos significativamente mayor al del grupo control, la población depresiva total y D-I [ $p < 0,001$ ] (**Figuras 5a y 5b, Capítulo IV**).

Los gráficos de distribución del tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos en el grupo control, la población depresiva total y el subgrupo D-I fueron muy similares entre si, con una distribución unimodal sesgada representada en los tres grupos por un pico modal del 35%, para un tamaño entre  $0,05$ - $0,10 \mu\text{m}^2$ , y diferentes todos ellos al del subgrupo D-II, con un pico modal inferior al 30% entre  $0,05$ - $0,10 \mu\text{m}^2$ . (**Figura 4, Capítulo IV**). Este parámetro nos permitió diferenciar dos subgrupos depresivos D-I y D-II en relación con la agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, que coincidieron con los dos subgrupos diferenciados respecto a SERT.

Cabe señalar que el inmunomarcaje para 5-HT<sub>2A</sub> únicamente apareció en una subpoblación de linfocitos, representada por el 50% del total de la población linfocitaria, tanto para el grupo control como para el grupo depresivo (**Figura 2, Capítulo IV**).

Por último, el análisis de las diferencias en los parámetros biológicos, número y tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> en relación con el tipo de diagnóstico y con el tipo de tratamiento de la población depresiva mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas en las medidas biológicas, ni en relación con la historia de episodios de depresión mayor, ni debido al tipo de tratamiento prescrito (**Tablas IV y V, Capítulo IV**).

### 5.3. Estudio de las puntuaciones totales de la escala EAA en pacientes depresivos.

#### 5.3.1. Análisis de las diferencias en las escala EAA en pacientes no tratados.

Antes del inicio del tratamiento, las puntuaciones medias totales de EAA en la población depresiva total y en los subgrupos D-I y D-II fueron (269,79±32), (278,20±42,58) y (256,57±51,63), respectivamente, mostrando una ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos en cuanto a la sintomatología anhedónica [ $F(2)=0,05$ ;  $p>0,95$ ] (**Tabla I**). Asimismo, al comparar las puntuaciones medias de los tres grupos entre si, se observó que entre DT y D-I existía una diferencia de medias de 8,4 ( $p>0,99$ ), entre DT y D-II una diferencia de 13,2 ( $p>0,99$ ) y entre D-I y D-II una diferencia de 21,6 ( $p>0,99$ ). Esto indica que los subgrupos depresivos definidos biológicamente no se reflejaron a nivel clínico en relación con sus puntuaciones totales en la escala EAA.

Respecto a las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA Y CAMBIO, los valores obtenidos también resultaron ser semejantes para los tres grupos de depresión, con puntuaciones medias en la subescala de INTENSIDAD de 82,82±10,90 (población depresiva total), 87,25±14,48 (D-I) y 75,86±17,45 (D-II), sin significación estadística [ $F(2)=0,127$ ;  $p>0,88$ ]; en la subescala de FRECUENCIA de 84,47±11,33 (población depresiva total), 88,23±14,68 (D-I) y 78,57±19,02 (D-II) para un valor [ $F(2)=0,084$ ;  $p>0,92$ ] y en la subescala de CAMBIO de 102,50±14,71 (población depresiva total), 102,73±15,85 (D-I) y 102,14±29,29 (D-II) para un valor [ $F(2)=0,01$ ;  $p>0,99$ ] (**Tabla I**). Las comparaciones múltiples entre los tres grupos de depresión confirmaron la ausencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,99$ ) para las puntuaciones medias de las tres subescalas, como ocurrió con las puntuaciones medias de la EAA.

Un análisis más específico mostró que las puntuaciones en los ítems que miden los tres dominios de la Anhedonia: Anhedonia Física, Anhedonia Intelectual y Anhedonia Social de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, no reflejaron diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,9$ ) entre la población depresiva total, D-I y D-II en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de las tres subescalas. Asimismo, para los tres grupos las puntuaciones totales de la subescala CAMBIO fueron claramente superiores a las puntuaciones totales de las subescalas INTENSIDAD y FRECUENCIA, aunque las diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

Sin embargo, si se encontraron diferencias estadísticamente significativas dentro de la población depresiva total y del subgrupo D-I en la capacidad para disfrutar de las actividades

físicas respecto de las actividades sociales de la subescala de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO. La muestra depresiva total presentó puntuaciones significativamente más altas en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico respecto a los ítems que miden la capacidad de disfrute social de la subescala de INTENSIDAD ( $p<0,04$ ), FRECUENCIA ( $p<0,004$ ) y CAMBIO ( $p<0,05$ ), sin diferenciarse significativamente de los ítems que miden la capacidad de disfrute intelectual. Del mismo modo, el subgrupo depresivo D-I presentó puntuaciones significativamente más altas en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico respecto a los ítems que miden la capacidad de disfrute social de la subescala de INTENSIDAD ( $p<0,05$ ), FRECUENCIA ( $p<0,05$ ) y CAMBIO ( $p<0,01$ ), sin diferenciarse significativamente de los ítems que miden la capacidad de disfrute intelectual. Es decir, ambos grupos mostraron mayor anhedonia física que social tanto en intensidad, como en frecuencia y en la percepción de cambio. En el subgrupo D-II, las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico también fueron superiores a las puntuaciones en los ítems relativos al disfrute social, pero las diferencias no alcanzaron significancia estadística (**Tabla II; Figura 1**).

Finalmente, el análisis de las diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA y de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, en relación con el tipo de diagnóstico y con el tipo de tratamiento de la población depresiva mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas en las medidas clínicas, ni en relación con la historia de episodios de depresión mayor, ni debido al tipo de tratamiento prescrito, ANTES DEL INICIO DEL TRATAMIENTO. (**Tablas III y IV**).

**Tabla I.** Diferencias en la puntuación total de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para los tres grupos de estudio.

	EAA	INTENSIDAD	FRECUENCIA	CAMBIO
<b>Depresión</b>	269,79±32	82,82±10,9	84,47±11,33	102,50±14,71
<b>Depresión I</b>	278,20±42,58	87,25±14,48	88,23±14,68	102,73±15,85
<b>Depresión II</b>	272,25±47,58	79,87±15,6	78,35±16,5	114,03±20,11
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(0,05)</b> <b>p&gt;0,9</b>	<b>F(0,13)</b> <b>p&gt;0,85</b>	<b>F(0,08)</b> <b>p&gt;0,9</b>	<b>F(0,01)</b> <b>p&gt;0,95</b>

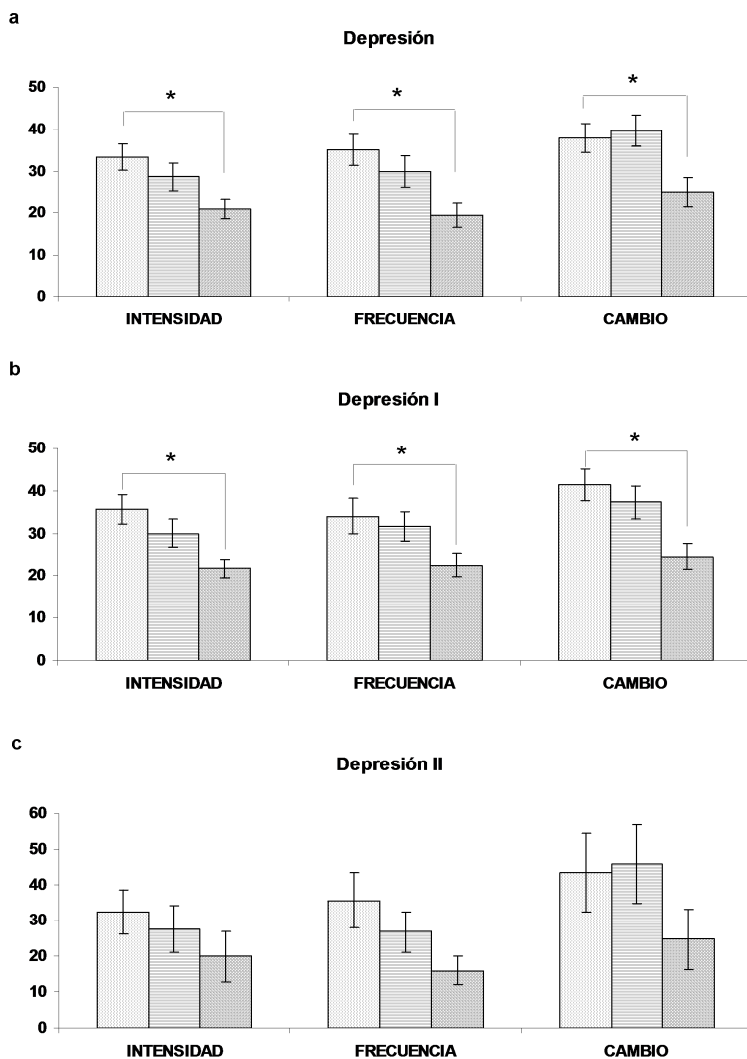
**Tabla II.** Diferencias en las puntuaciones medias totales de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con la capacidad de disfrute físico, intelectual y social, para los tres grupos de análisis DT (muestra depresiva total), D-I y D-II.

	<i>Anhedonia Física</i>			<i>Anhedonia Intelectual</i>			<i>Anhedonia Social</i>			<i>Puntuaciones Totales</i>		
	DT	D-I	D-II	DT	D-I	D-II	DT	D-I	D-II	DT	D-I	D-II
<b>INTENSIDAD</b>	33,23	35,62	32,44	28,63	29,91	27,57	20,96	21,75	19,85	82,82	87,25	79,87
<b>FRECUENCIA</b>	35,06	34,03	35,59	29,83	31,69	26,75	19,57	22,51	16,01	84,47	88,23	78,35
<b>CAMBIO</b>	37,84	41,34	43,44	39,64	37,25	45,90	25,02	24,45	24,69	102,50	102,73	114,03
	<b>106,1</b>	<b>110,8</b>	<b>111,4</b>	<b>98,09</b>	<b>98,85</b>	<b>100,2</b>	<b>65,55</b>	<b>68,71</b>	<b>60,55</b>	<b>269,79</b>	<b>278,20</b>	<b>272,25</b>

DT: Depresión o Población depresiva total

D-I: Depresión I

D-II: Depresión II



**Figura 1.** Puntuación total en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas , intelectuales y sociales de la escala INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para los tres grupos de estudio: Depresión (población depresiva total) (a), Depresión I (b) y Depresión II (c), antes del inicio de tratamiento psicofarmacológico. En la población depresiva total (a) y en el subgrupo D-I (b), las puntuaciones relativas a los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades físicas fueron significativamente (\*) más altas que las de los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades sociales. Los datos se expresan en medias±ESM.

**Tabla III.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA (y de las subescalas) según el tipo de diagnóstico (antes del tratamiento)

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Episodio único</b>	269,38±38,65	82,12±13,82	84,89±14,13	98,93±15,31
<b>Episodio múltiple</b>	283,25±58,15	85,25±11,63	83,00±15,62	115,00±11,84
<b>Test t de Student</b>	<b>t(-0,620)</b> <b>p&gt;0,291</b>	<b>t(-1,065)</b> <b>p&gt;0,295</b>	<b>t(-0,625)</b> <b>p&gt;0,537</b>	<b>t(-0,160)</b> <b>p&gt;0,874</b>

**Tabla IV.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA (y de las subescalas) según el tipo de tratamiento psicofarmacológico (antes del tratamiento).

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Monoterapia antidepressiva</b>	293	88	132	73
<b>Antidepressivo + Ansiolítico (AD+ANS)</b>	311,90±41,48	96,40±12,32	95,70±12,3	120,40±21,78
<b>Antidepressivo + Antipsicótico (AD+AP)</b>	204±53,53	75±24,83	56,33±13,86	72,67±19,95
<b>Antidepressivo + Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	199±76,75	54,75±33,76	46,25±29,16	98±31,54
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(0,985)</b> <b>p&gt;0,43</b>	<b>F(0,783)</b> <b>p&gt;0,52</b>	<b>F(0,982)</b> <b>p&gt;0,42</b>	<b>F(0,656)</b> <b>p&gt;0,66</b>

**Nota:** Los datos referentes al tratamiento con monoterapia antidepressiva no muestran error asociado a la media debido a que sólo existe un paciente en la muestra al que se le prescribió este tipo de terapia psicofarmacológica.

**5.3.2. Correlaciones entre la escala EAA y los parámetros biológicos en individuos depresivos no tratados.**

El análisis correlacional entre las puntuaciones totales de la escala EAA, y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, con los parámetros biológicos, número y tamaño medio de los agrupamientos, no revelaron ninguna correlación estadísticamente significativa entre las variables clínicas y biológicas ni en la población depresiva total ni en el subgrupo D-I, sin embargo, si se observó una asociación estadísticamente significativa entre el número medio de agrupamientos y las puntuaciones totales de la escala EAA ( $p < 0,001$ ) y de las subescalas INTENSIDAD ( $p < 0,028$ ) y FRECUENCIA ( $p < 0,007$ ) para el subgrupo D-II. Estas correlaciones también se pudieron observar durante el estudio de las alteraciones del transportador SERT en relación con la escala EAA (ver Capítulo III, punto 3.3.2). En ambos casos, las puntuaciones totales de la escala EAA y de las subescalas INTENSIDAD y FRECUENCIA correlacionan con el número medio de agrupamientos (5-HT<sub>2A</sub>-positivos y/o SERT-positivos) para el subgrupo D-II. Con la excepción de la subescala de CAMBIO que no correlacionó significativamente ni con el número medio de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos ni SERT-positivos para D-II. Sin embargo, para el receptor 5-HT<sub>2A</sub> las correlaciones tuvieron un signo opuesto a las de SERT, a mayor número de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> -positivos mayores fueron las puntuaciones totales de la escala EAA y sus subescalas.

**Tabla V.** Correlaciones entre las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO con el número y tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos.

		EAA	INTENSIDAD	FRECUENCIA	CAMBIO
Depresión		$p > 0,728$	$p > 0,877$	$p > 0,672$	$p > 0,754$
Depresión I	Número	$p > 0,610$	$p > 0,528$	$p > 0,672$	$p > 0,698$
	de	<b>R= 0,992**</b>	<b>R= 0,808*</b>	<b>R= 0,895*</b>	
Depresión II	agrupamientos	<b>p &lt; 0,001</b>	<b>p &lt; 0,03</b>	<b>p &lt; 0,007</b>	$p > 0,088$
Depresión	Tamaño	$p > 0,717$	$p > 0,488$	$p > 0,500$	$p > 0,809$
Depresión I	de los	$p > 0,841$	$p > 0,766$	$p > 0,791$	$p > 0,978$
Depresión II	agrupamientos	$p > 0,368$	$p > 0,079$	$p > 0,143$	$p > 0,808$

\*La correlación es significativa al nivel  $p < 0,05$  (bilateral)

\*\*La correlación es significativa al nivel  $p < 0,01$  (bilateral)

### **5.3.3. Análisis de las diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO después del tratamiento**

Las puntuaciones totales en la escala EAA y en las tres subescalas para la población depresiva total y los subgrupos depresivos D-I y D-II aparecen representadas en la **Tabla VI** y en la **Figura 2**. Las puntuaciones totales fueron similares en la población depresiva total y en el subgrupo D-I, y más elevadas que en el subgrupo D-II, sin embargo, las diferencias intergrupales no fueron estadísticamente significativas ni para la escala EAA ( $p>0,19$ ) ni para la subescala de CAMBIO ( $p>0,63$ ), sólo se obtuvo significancia estadística para la subescala de INTENSIDAD ( $p<0,05$ ) y FRECUENCIA ( $p<0,05$ ). El análisis de las diferencias múltiples mediante la corrección de Bonferroni indicó que efectivamente no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las puntuaciones totales de la población depresiva total y del subgrupo D-I en la escala EAA ( $p>0,99$ ) y en las tres subescalas ( $p>0,99$ ), ni diferencias estadísticamente significativas entre la población depresiva total y D-II en la escala EAA ( $p>0,5$ ) y en las tres subescalas ( $p>0,5$ ), pero si mostró la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos depresivos, D-I y D-II, para las subescalas INTENSIDAD ( $p<0,05$ ) y FRECUENCIA ( $p<0,05$ ), sin diferencias significativas para la escala EAA ( $p>0,2$ ) y la subescala de CAMBIO ( $p>0,5$ ).

El análisis estadístico sobre las puntuaciones de los tres dominios de la Anhedonia: Anhedonia Física, Intelectual y Social de las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA Y CAMBIO (**Tabla VII**; **Figura 3**) reveló que los pacientes del subgrupo D-II presentaron puntuaciones más bajas, estadísticamente significativas, en los ítems que evalúan la capacidad de disfrute físico, intelectual y social de la subescala INTENSIDAD, respecto de los pacientes del subgrupo D-I ( $p<0,01$ ;  $p<0,05$ ;  $p<0,05$ , respectivamente). En la subescala de FRECUENCIA los pacientes del subgrupo D-II mostraron puntuaciones estadísticamente más bajas en los ítems que evalúan la capacidad de disfrute físico, intelectual y social respecto de los pacientes del subgrupo D-I ( $p<0,05$ ;  $p<0,01$  y  $p<0,05$ , respectivamente). Pero, en la subescala de CAMBIO no se observaron diferencias significativas entre D-I y D-II ni la capacidad de disfrutar de actividades físicas ( $p>0,5$ ), ni intelectuales ( $p>0,9$ ) o sociales ( $p>0,7$ ).

Un aspecto común para los tres grupos de estudio fue la menor capacidad para disfrutar de actividades físicas respecto a las actividades sociales e intelectuales, se observó al inicio del estudio y se mantiene tras ocho semanas de tratamiento. Las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad para disfrutar de actividades físicas continuaron siendo significativamente



más altas que en los ítems que miden la capacidad de disfrute social tanto de la subescala de INTENSIDAD como de FRECUENCIA y CAMBIO, en la población depresiva total ( $p < 0,03$ ;  $p < 0,02$ ;  $p < 0,04$ , respectivamente) y en el subgrupo D-I ( $p < 0,04$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,02$ , respectivamente). Con la excepción del subgrupo D-II que continuó mostrando puntuaciones más bajas en los ítems de anhedonia social que en los ítems que miden anhedonia física, pero sin relevancia estadística (**Tabla VII**; **Figura 4**).

También, se observó que las puntuaciones totales de la subescala de CAMBIO siguieron siendo más altas que en las subescalas de INTENSIDAD y FRECUENCIA como ya ocurría antes del inicio del tratamiento, para la población depresiva total y los subgrupos D-I y D-II, sin embargo, las diferencias no tuvieron significación estadística.

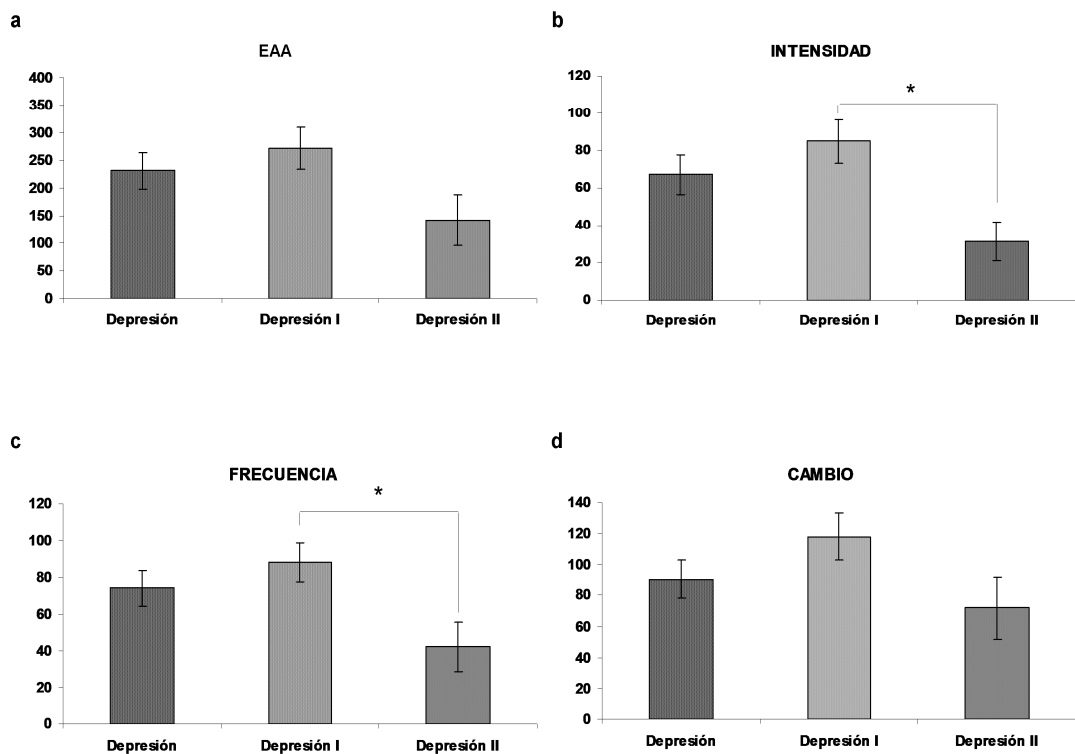
**Tabla VI.** Diferencias en la puntuación total de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO entre los tres grupos de estudio después del tratamiento.

	EAA	INTENSIDAD	FRECUENCIA	CAMBIO
<b>Depresión</b>	231,65±33,18	67,19±12,22	73,81±10,99	90,62±12,85
<b>Depresión I</b>	272,25±38,59	84,91±14,04	88,36±11,87	99,09±15,03
<b>Depresión II</b>	145,40±45,98	31,40±10,33	41,98±13,5	72,02±20,38
<b>Prueba F de ANOVA</b>	<b>F(1,789) p&gt;0,19</b>	<b>F(2,645) p&lt;0,05</b>	<b>F(2,125) p&lt;0,05</b>	<b>F(0,470) p&gt;0,63</b>

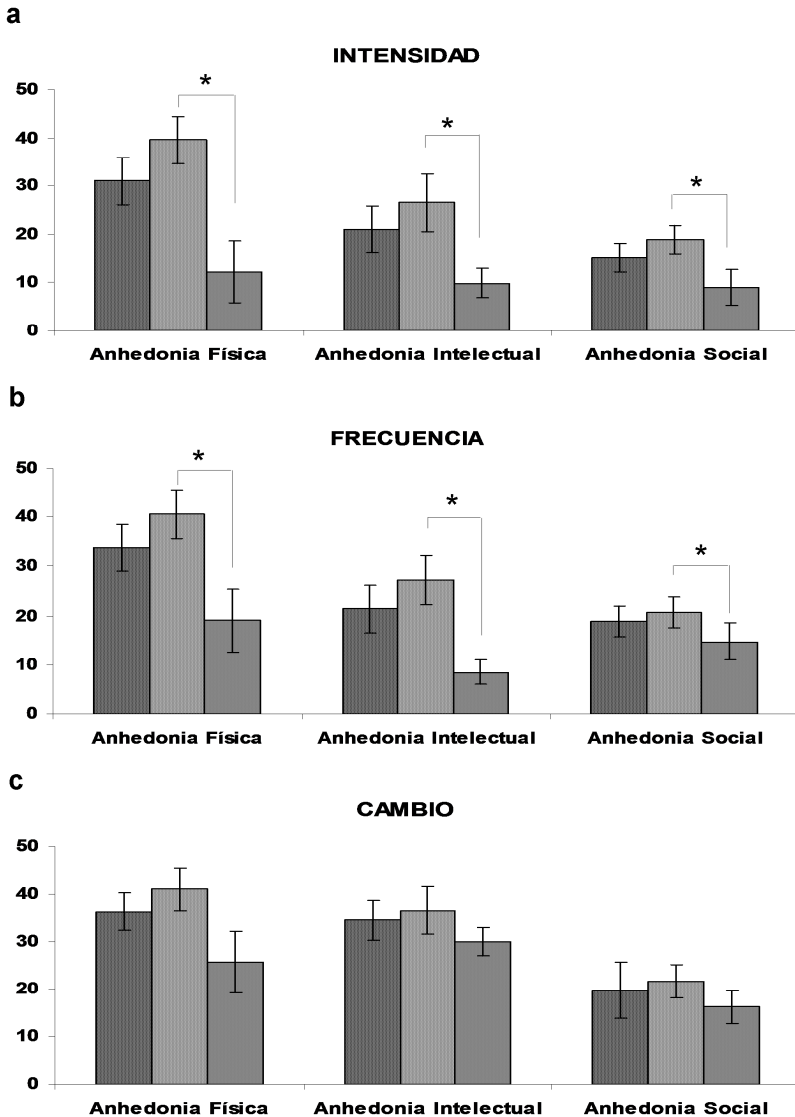
**Tabla VII.** Diferencias en las puntuaciones medias totales de la escala EAA y de las subescalas: INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO en relación con la capacidad de disfrute físico, intelectual y social, para los tres grupos de análisis DT (muestra depresiva total), D-I y D-II, después del tratamiento.




	<i>Anhedonia Física</i>			<i>Anhedonia Intelectual</i>			<i>Anhedonia Social</i>			<i>Puntuaciones Totales</i>		
	DT	D-I	D-II	DT	D-I	D-II	DT	D-I	D-II	DT	D-I	D-II
<b>INTENSIDAD</b>	30,99	39,53	12,32	21,04	26,54	9,9	15,16	18,84	9,08	67,19	84,91	31,4
<b>FRECUENCIA</b>	33,71	40,54	18,98	21,34	27,24	8,5	18,76	20,62	14,68	73,81	88,36	41,98
<b>CAMBIO</b>	36,32	40,96	25,76	34,51	36,52	30,1	19,78	21,61	16,16	90,62	99,09	72,02
	<b>101,02</b>	<b>121</b>	<b>57,06</b>	<b>76,89</b>	<b>90,3</b>	<b>48,5</b>	<b>53,7</b>	<b>61,07</b>	<b>39,92</b>	<b>231,65</b>	<b>272,25</b>	<b>145,4</b>

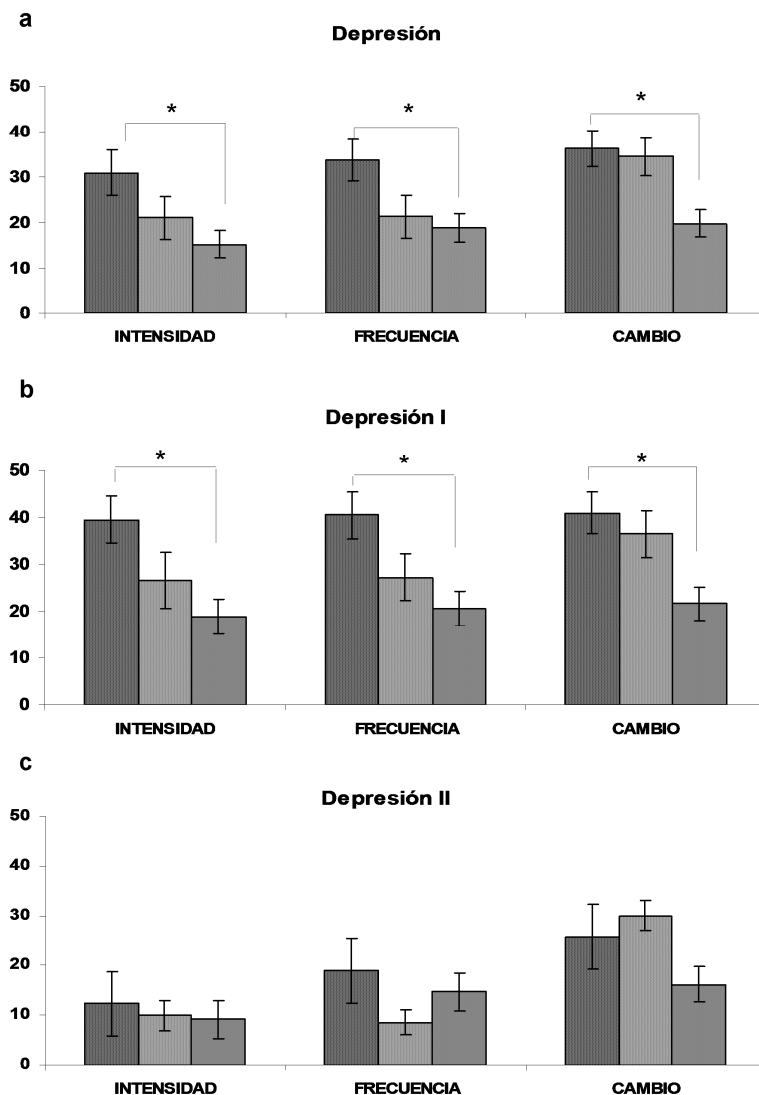
DT: Depresión o Población depresiva total  
D-I: Depresión I  
D-II: Depresión II



**Figura 2.** Puntuación total de la escala de anhedonia EAA (a) y de las subescalas INTENSIDAD (b), FRECUENCIA (c) y CAMBIO (d) para los tres grupos de depresión: Depresión (población depresiva total), Depresión I y Depresión II después de ocho semanas de tratamiento. Se observan diferencias estadísticamente significativas entre D-I y D-II en las puntuaciones totales de las subescala de INTENSIDAD y FRECUENCIA, la puntuación total de la escala EAA y de la subescala CAMBIO, continúa siendo similar para los tres grupos de estudio. Los datos aparecen representados en medias±ESM.



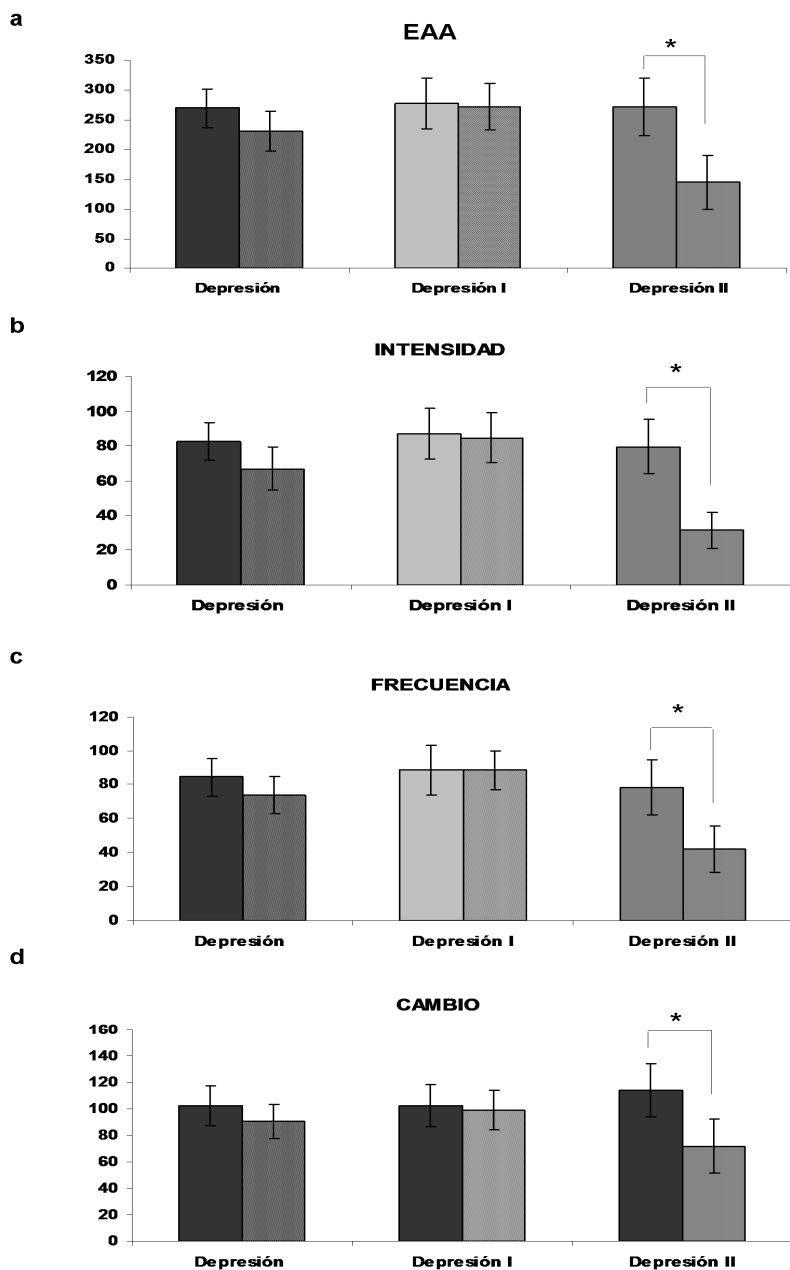
**Figura 3.** Puntuaciones totales relativas a la capacidad de disfrute físico, intelectual y social de las subescalas de INTENSIDAD (a), FRECUENCIA (b) y CAMBIO (c) en los tres grupos de depresión (Depresión , Depresión I , y Depresión II , después de ocho semanas de tratamiento. Las puntuaciones totales fueron significativamente (\*) inferiores en el subgrupo Depresión II respecto al subgrupo Depresión I en la capacidad de disfrute físico, intelectual y social de las subescalas de INTENSIDAD y FRECUENCIA. Los datos aparecen representados en medias±ESM.



**Figura 4.** Puntuaciones totales relativas a la capacidad de disfrute físico (■), intelectual (□) y social (■), de las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para la muestra de depresión total (a), Depresión I (b) y Depresión II (c), después de ocho semanas de tratamiento. En la muestra total de depresión y en el subgrupo D-I las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades físicas fueron significativamente (\*) superiores a las puntuaciones en los ítems que miden la capacidad de disfrute social en las tres subescalas de anhedonia. Los datos aparecen representados en medias±ESM.

Las diferencias intergrupales analizadas hasta el momento reflejaron un efecto mayor del tratamiento en el subgrupo D-II que en D-I. Para comprobar las diferencias en las puntuaciones clínicas relacionadas con la medicación se compararon las puntuaciones antes y después del tratamiento para cada grupo de depresión aplicando el test t de Student para muestras relacionadas. Los resultados indicaron que no hubo ninguna variación estadísticamente significativa en las puntuaciones medias de la escala EAA ni de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO para la población depresiva total ni para el subgrupo D-I, sin embargo, en el subgrupo D-II se observó una disminución estadísticamente significativa en las puntuaciones totales de la escala EAA y de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO (**Figura 5; Tabla VIII**). Cabe señalar que los cambios estadísticamente significativos producidos a nivel biológico concuerdan con las variaciones igualmente significativas en las variables clínicas, como se pudo observar en las puntuaciones de la escala EAA y subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO.

Finalmente, el análisis de las diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA y de las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, en relación con el tipo de diagnóstico y con el tipo de tratamiento de la población depresiva mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas en las medidas clínicas, ni en relación con la historia de episodios de depresión mayor, ni debido al tipo de tratamiento prescrito (**Tablas IX y X**).



**Figura 5.** Diferencias en la escala EAA (a) y en las subescalas INTENSIDAD (b), FRECUENCIA (c) y CAMBIO (d), antes-después del tratamiento, en la población depresiva total y en los subgrupos depresivos. Únicamente en el subgrupo Depresión II se observa una reducción estadísticamente significativa (\*) en las puntuaciones totales de anhedonia como resultado del tratamiento psicofarmacológico. Los datos se representan en medias±ESM.

**Tabla VIII.** Diferencias en la escala EAA y en las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, antes-después del tratamiento, en la población depresiva total y en los subgrupos depresivos. Test t de Student para muestras relacionadas.

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Depresión</b>	t(19)=1,185	t(19)= 1,137	t (19) = 0,943	t (19) = 1,226
Naïve-Tratado	p>0,254	p>0,273	p>0,361	p>0,239
<b>Depresión I</b>	t(11)= 0,125	t (11) = 0,129	t (11)= - 0,09	t (11) = 0,222
Naïve-Tratado	p>0,905	p> 0,902	p>0,99	p>0,829
<b>Depresión II</b>	<b>t(7)=2,718</b>	<b>t (7) = 3,011</b>	<b>t(7) = 2,667</b>	<b>t (7) = 2,334</b>
Naïve-Tratado	<b>p&gt;0,02</b>	<b>p&gt;0,01</b>	<b>p&gt;0,02</b>	<b>p &gt;0,05</b>

**Tabla IX.** Diferencias en los parámetros biológicos y en las puntuaciones medias totales de la escala EAA (y subescalas) según el tipo de diagnóstico y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Episodio único</b>	192,73±48,45	54,23±18,41	61±17,87	77,50±20,76
<b>Episodio múltiple</b>	255±44,62	74,97±16,27	81,72±14,10	98,31±16,68
<i>Diagnóstico</i>	<b>F(0,160);p&gt;0,692</b>	<b>F(0,407);p&gt;0,529</b>	<b>F(0,022);p&gt;0,883</b>	<b>F(0,349);p&gt;0,560</b>
<i>Tiempo</i>	<b>F(0,217);p&gt;0,645</b>	<b>F(1,194);p&gt;0,284</b>	<b>F(0,213);p&gt;0,648</b>	<b>F(0,131);p&gt;0,721</b>
<i>Diagnóstico*Tiempo</i>	<b>F(0,010);p&gt;0,921</b>	<b>F(0,594);p&gt;0,447</b>	<b>F(0,108);p&gt;0,745</b>	<b>F(0,005);p&gt;0,946</b>

**Nota:** Los datos referentes a antes del tratamiento no se incluyen en la tabla por falta de espacio pero aparecen recogidos en la Tabla IV.



**Tabla X.** Diferencias en las puntuaciones totales de la escala EAA (y subescalas) según el tipo de tratamiento psicofarmacológico y el tiempo de tratamiento (antes y después).

	<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Monoterapia antidepresiva Antidepresivo</b>	327,60	127,70	79±10,75	108,30
<b>+ Ansiolítico (AD+ANS) Antidepresivo</b>	231,90±44,84	63,97±15,77	80,88±14,22	74,51±14,85
<b>+ Antipsicótico (AD+AP) Antidepresivo</b>	239,50±44,30	77±5	122,96±37,88	85,10±1,9
<b>+ Estabilizador del estado de ánimo (AD+EA)</b>	203,16±92,59	54,42±32,99	59,58±19,32	58,53±30,01
<i>Tratamiento</i>	<b>F(0,203);p&gt;0,899</b>	<b>F(0,593);p&gt;0,631</b>	<b>F(0,357);p&gt;0,785</b>	<b>F(0,043);p&gt;0,988</b>
<i>Tiempo</i>	<b>F(0,148);p&gt;0,704</b>	<b>F(0,025);p&gt;0,874</b>	<b>F(0,001);p&gt;0,974</b>	<b>F(0,001);p&gt;0,978</b>
<i>Tratto*Tiempo</i>	<b>F(0,133);p&gt;0,940</b>	<b>F(0,417);p&gt;0,742</b>	<b>F(0,500);p&gt;0,686</b>	<b>F(0,097);p&gt;0,961</b>

**Nota:** Los datos referentes a antes del tratamiento no se incluyen en la tabla por falta de espacio pero aparecen recogidos en la **Tabla IV**.

**Nota:** Los datos referentes al tratamiento con monoterapia antidepresiva no muestran error asociado a la media debido a que sólo existe un paciente en la muestra al que se le prescribió este tipo de terapia psicofarmacológica.

#### 5.4. Análisis de los parámetros biológicos después del tratamiento.

Los resultados relacionados con los parámetros biológicos después de 8 semanas de tratamiento se describieron en el capítulo anterior (**Capítulo IV; punto 4.4; Figura 8**). El tratamiento tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos en los tres grupos de depresión, con una disminución en el número de agrupamientos del 17% para la población depresiva total ( $42,97 \pm 1,14$ ) ( $p < 0,001$ ), una disminución del 16% para D-I ( $44,39 \pm 1,09$ ) ( $p < 0,001$ ) y una disminución del 20% para D-II ( $40,31 \pm 2,32$ ) ( $p < 0,001$ ). El análisis comparativo intergrupar mostró la ausencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,591$ ) entre la población depresiva total, D-I y D-II, llegando a desaparecer incluso la diferencia inicial que existía respecto al grupo control. El tamaño medio de los agrupamientos también disminuyó después de las 8 semanas de tratamiento y en los tres casos esa reducción fue significativa: en la población depresiva total se redujo un 5% ( $0,14 \pm 0,006$ ) ( $p < 0,04$ ), en el subgrupo D-I un 2% ( $0,13 \pm 0,004$ ) ( $p < 0,01$ ) y en el subgrupo D-II un 10% ( $0,17 \pm 0,01$ ) ( $p < 0,03$ ). Sin embargo, en este caso las diferencias intergrupales continuaron estando presentes ( $p < 0,009$ ), persistiendo la disparidad que existía antes del tratamiento entre el subgrupo D-I y D-II ( $p < 0,007$ ) y entre el grupo control y D-II ( $p < 0,02$ ). A pesar de que en el subgrupo D-II el tamaño también se redujo en gran medida pero no llega a ser similar al del grupo control. Cabe señalar que el efecto del tratamiento fue mayor para el subgrupo D-II que para la población depresiva total y D-I, con una disminución más acusada de los parámetros biológicos.

Además, las **Tablas XI y XII (Capítulo IV; punto 4.4)** mostraron la ausencia de variaciones en el número y tamaño medio de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos en relación con el tipo de diagnóstico y el tipo de tratamiento psicofarmacológico después del tratamiento.

##### 5.4.1. *Correlaciones entre la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO y los parámetros biológicos después del tratamiento.*

Después del tratamiento, el análisis de correlaciones reveló que a menor número de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos mejor era el resultado clínico, es decir, mayor era la disminución en las puntuaciones de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA Y CAMBIO.

La **Tabla XI** muestra el análisis de correlaciones entre el número y tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> -positivos y las puntuaciones de EAA y sus subescalas después de ocho semanas de tratamiento, indicando que las correlaciones descritas antes del tratamiento (**Tabla V**,

**punto 5.4)** se mantienen después del tratamiento. Estas correlaciones son significativas para el subgrupo D-II, que presenta una correlación significativa entre el número de agrupamientos y las puntuaciones de la escala EAA ( $R= 0,902^*$ ;  $p<0,02$ ) y las subescalas INTENSIDAD ( $R= 0,846^*$ ;  $p<0,04$ ) y FRECUENCIA ( $R= 0,889^*$ ;  $p<0,03$ ). Después del tratamiento el número de agrupamientos disminuye mientras que tiene lugar una mejoría en anhedonia para el subgrupo D-II.

Además encontramos correlaciones igualmente significativas para el subgrupo D-I entre el número de agrupamientos y la puntuación total de EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO.

**Tabla XI.** Correlaciones entre las puntuaciones totales de la escala EAA y las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO con el número y tamaño de los agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub>-positivos, después del tratamiento.

		<b>EAA</b>	<b>INTENSIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>CAMBIO</b>
<b>Depresión</b>	Número de agrupamientos	<b>R= 0,502*</b> <b>p&lt;0,02</b>	R= 0,301 p>0,135	R= 0,297 p>0,198	<b>R= 0,488**</b> <b>p&lt;0,01</b>
	Tamaño de los agrupamientos	R= -0,121 p>0,611	R= 0,133 p>0,539	R= 0,148 p>0,422	R= -0,026 p>0,975
	Número de agrupamientos	<b>R= 0,472**</b> <b>p&lt;0,01</b>	<b>R= 0,508**</b> <b>p&lt;0,01</b>	<b>R= 0,496**</b> <b>p&lt;0,01</b>	<b>R= 0,421*</b> <b>p&lt;0,02</b>
	Tamaño de los agrupamientos	R= 0,439 p>0,442	R= 0,367 p>0,585	R= -0,284 p>0,688	R= -0,697 p>0,216
<b>D-II</b>	Número de agrupamientos	<b>R= 0,902*</b> <b>p&lt;0,02</b>	<b>R= - 0,846*</b> <b>p&lt;0,04</b>	<b>R= 0,889*</b> <b>p&lt;0,03</b>	R= - 0,869 p>0,073
	Tamaño de los agrupamientos	R= - 0,354 p>0,678	R= 0,242 p>0,639	R= 0,366 p>0,554	R= - 0,037 p>0,958

\*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral)

\*\*La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral)

## C. DISCUSIÓN

En este estudio hemos visto que la escala de anhedonia EAA puede discriminar entre los subtipos depresivos D-I y D-II, que observamos biológicamente. En la escala de depresión HDRS, al inicio del estudio, no se observaron diferencias intergrupales estadísticamente significativas entre D-I y D-II, sus puntuaciones totales resultaron muy similares por lo que concluimos que los subtipos biológicos definidos por las alteraciones en la agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> no se mostraban a nivel clínico. Sin embargo, en la escala de anhedonia si hemos podido observar diferencias clínicas entre estos subgrupos. Como ocurría con la escala HDRS, no se observaron diferencias intergrupales ni en la puntuación total de EAA ni en las subescalas INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, pero al realizar un análisis más específico en relación con los tres dominios de la anhedonia: física, intelectual y social, encontramos diferencias entre D-I y D-II respecto a su capacidad para disfrutar de actividades físicas y sociales. Los pacientes del subgrupo D-I presentaron una anhedonia física significativamente más elevada que de tipo social, y esta diferencia no se observa en el subgrupo D-II.

En el estudio realizado por Olivares y col. (2005), aplicando la escala de anhedonia EAA, los resultados mostraron que los pacientes depresivos presentaron puntuaciones más elevadas que los sujetos control en todos los ítems que miden la capacidad de disfrutar de actividades físicas, intelectuales y sociales de las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO, mientras que los pacientes esquizofrénicos presentarían puntuaciones más elevadas sólo en algunos de los ítems pero no en todos. Concluyendo que los pacientes deprimidos presentarían una anhedonia real, siendo conscientes de sufrir una disminución de su capacidad para disfrutar, siendo el placer que obtienen de actividades habitualmente placenteras (físicas, intelectuales o sociales) poco intenso y poco frecuente. Según estos datos no habría diferencias en los pacientes con depresión en relación con los ítems que miden la anhedonia física, intelectual o social, siendo igualmente elevadas.

Además de las puntuaciones más altas en los ítems del dominio físico de la anhedonia respecto al social en los pacientes del subgrupo D-I, también se observó una correlación estadísticamente significativa entre un mayor número de agrupamientos y puntuaciones más elevadas en la escala EAA y en sus subescalas en el subgrupo D-II que no se mostró para D-I. Por tanto, al contrario que la escala HDRS que no distinguía los subtipos depresivos, encontramos diferencias en la escala de anhedonia. Cabe señalar, que la correlación para el

subgrupo D-II entre el número de agrupamientos y las puntuaciones de la EAA también se presentó para el transportador SERT, sin embargo, ambas correlaciones mostraron un signo opuesto, el número de agrupamientos SERT-positivos correlaciona negativamente con las puntuaciones de la EAA y el número de agrupamientos 5-HT<sub>2A</sub> correlaciona positivamente con las estas puntuaciones.

Por otro lado, tras el tratamiento no se observaron diferencias intergrupales significativas, entre D-I y D-II, ni en la puntuación total de la EAA ni en la escala de CAMBIO, únicamente hubo diferencias para las puntuaciones de INTENSIDAD y FRECUENCIA, siendo la disminución mayor para D-II. Con la escala HDRS veíamos que las puntuaciones se redujeron significativamente en D-I y D-II, pero la disminución era mucho mayor para D-II. En ambos casos, el efecto del tratamiento es mayor para D-II, sin embargo, como hemos señalado las puntuaciones de la HDRS se reduce tanto en D-I y D-II aunque sea más fuerte en D-II, pero en la EAA, las puntuaciones para D-I no disminuyen significativamente después del tratamiento, no hay diferencias significativas antes-después para este subgrupo.

La reducción más intensa para D-II en las subescalas INTENSIDAD y FRECUENCIA afectó a los tres dominios de la anhedonia (físico, intelectual y social) en la misma medida, con la excepción de la puntuación en la subescala de CAMBIO, en la que no hay diferencias entre D-I y D-II para ninguno de los dominios.

Las puntuaciones en el dominio físico respecto al social presente en D-I, descrito antes del tratamiento, continuó estando presente tras ocho semanas. En D-II no se observaba esta diferencia y tampoco se presentó tras el tratamiento.



# **Conclusiones**





## Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación nos permiten establecer las siguientes conclusiones:

1. En animales heterocigotos reeler ( $Reln^{+/-}$ ), donde los niveles de reelina en plasma sanguíneo se encuentran reducidos aproximadamente a la mitad, existe un incremento significativo en el número y el tamaño medio de los agrupamientos SERT-positivos en la membrana de los linfocitos.

2. Los pacientes con trastorno depresivo mayor muestran una alteración en la distribución de los agrupamientos SERT-positivos con una disminución del porcentaje de agrupamientos en el pico modal (entre 0,05 y 0,10  $\mu\text{m}^2$ ) y un incremento en el tamaño medio de los agrupamientos, aunque sin alteración en el número medio de agrupamientos.

3. El estudio de la agrupación de SERT en intervalos de tamaño permite diferenciar dos subtipos de pacientes depresivos, un grupo de pacientes en el que el pico modal es semejante al de los sujetos control (D-I) y un grupo que muestra un pico modal muy reducido respecto a la población control (D-II). En cuanto al índice clínico, no existen diferencias en la puntuación de Hamilton entre pacientes D-I y D-II.

4. Tras ocho semanas de tratamiento antidepresivo, existe una disminución significativa en la puntuación de Hamilton y esta reducción es mayor en el subtipo D-II, donde se observa remisión sintomatológica, a pesar de que sus medidas iniciales se alejan más del perfil control.

5. Los cambios en el análisis de la agrupación de SERT después del tratamiento muestran un incremento muy significativo en el pico modal y en el número medio de agrupamientos en el subtipo D-II, que se aproximan a los valores control, mientras que en el subtipo D-I existe un leve aumento en el pico modal y no hay variaciones en el número y tamaño medio de los agrupamientos. Los cambios se reflejan precisamente en el subtipo D-II, mostrando mejor respuesta al tratamiento.

6. En la escala de Anhedonia (EAA) no se observaron diferencias entre las D-I y D-II antes del tratamiento, ni en las puntuaciones totales de la escala ni en las puntuaciones de las subescalas de INTENSIDAD, FRECUENCIA y CAMBIO.

## Conclusiones

7. Después del tratamiento, hay una disminución significativa en las puntuaciones de las subescalas de INTENSIDAD y FRECUENCIA en D-II que no se observa en D-I, tanto en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico, como intelectual y social. En la puntuación total EAA y en la subescala de CAMBIO no hay cambios significativos en el subtipo D-I y D-II como resultado del tratamiento.

8. El análisis de la agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> muestra que los pacientes con trastorno depresivo mayor presentan una alteración en la distribución de los agrupamientos con una disminución del porcentaje de agrupamientos en el pico modal (entre 0,05 y 0,10  $\mu\text{m}^2$ ) y un incremento en el número y tamaño medio de los agrupamientos.

9. El estudio de la agrupación del receptor 5-HT<sub>2A</sub> en intervalos de tamaño permite diferenciar de nuevo dos subtipos de pacientes depresivos, un grupo de pacientes en el que el pico modal es semejante al de los sujetos control (D-I) y un grupo que muestra un pico modal muy reducido respecto a la población control (D-II). Los dos subtipos coinciden con los encontrados en el estudio de SERT, formados por los mismos pacientes.

10. Los subtipos de pacientes coinciden con los descritos en el estudio de SERT por lo que no existen diferencias significativas en las puntuaciones en Hamilton antes del tratamiento entre D-I y D-II y después del tratamiento aparece la reducción significativa en la puntuación de Hamilton mayor en D-II, donde se observa remisión.

11. Los cambios en el análisis de la agrupación de 5-HT<sub>2A</sub> después del tratamiento muestran un aumento en el pico modal y una disminución en el número y tamaño medio de los agrupamientos en D-I y D-II, siendo significativamente mayor en D-II.

12. En la escala de Anhedonia no hay diferencias entre D-I y D-II en la puntuación total EAA ni en las subescalas tres subescalas antes del tratamiento.

13. Después del tratamiento, existe una disminución significativa en las puntuaciones de las subescalas de INTENSIDAD y FRECUENCIA en D-II que no se observa en D-I, tanto en los ítems que miden la capacidad de disfrute físico, como intelectual y social. En la puntuación total EAA y en la subescala de CAMBIO no hay cambios significativos en el subtipo D-I y D-II como resultado del tratamiento.

# **Bibliografía**



- Abraham P.M., Kuruville K.P., Mathew J., Malat A., Joy S. y Paulose C.S. (2010) Alterations in hippocampal serotonergic and INSR function in streptozotocin induced diabetic rats exposed to stress: neuroprotective role of pyridoxine and Aegle marmelose. *J Biomed Sci*, 17:78.
- Ahern G.P. (2011) 5-HT and the immune system. *Curr Opin Pharmacol*, 11:29-33. Review.
- Angst, J. (1966) On the etiology and nosology of endogenous depressive psychoses. A genetic, sociologic and clinical study. *Monogr Gesamtgeb Neurol Psychiatry*, 112:1-118.
- Agudelo D., Spielberger C.D., Santolaya F., Carretero-Dios H. y Buela-Casal G. (2005) Análisis de validez convergente y discriminante del Cuestionario de Depresión Estado-Rasgo (ST-DEP). *Act Esp Psiquiat*, 33:374-382.
- Akiskal H.S. y Benazzi F. (2003) Family history validation of the bipolar nature of depressive mixed states. *J Affect Disord*, 73:113-122.
- Akiskal H.S., Djenderedjian A.M., Rosenthal R.H. y Khani M.K. (1977) Cyclothymic disorder: validating criteria for inclusion in the bipolar affective group. *Am J Psychiatry*, 134: 1227-1233.
- Akiskal H.S. y Weise R.W. (1992) The clinic spectrum of so-called "minor" depressions. *Am J Psychother*, 46:9-22.
- Albert P.R., Zhou Q.Y., Van Tol H.H., Bunzow J.R. y Civelli O.J. (1990) Cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine1A receptor gene. *J Biol Chem*, 265:5825-5832.
- Alonso-Fernández F. (1993) Diagnosis and subdiagnosis of depression. *Ann Med Psychol*, 151:23-32.
- Alonso J., Angermeyer M.C., Bernert S., Bruffaerts R., Brugha T.S., Bryson H., de Girolamo G., Graaf R., Demyttenaere K., Gasquet I., Haro J.M., Katz S.J., Kessler R.C., Kovess V., Lépine J.P., Ormel J., Polidori G., Russo L.J., Vilagut G., Almansa J., Arbabzadeh-Bouchez S., Autonell J., Bernal M., Buist-Bouwman M.A., Codony M., Domingo-Salvany A., Ferrer M., Joo S.S., Martínez-Alonso M., Matschinger H., Mazzi F., Morgan Z., Morosini P., Palacín C., Romera B., Taub N., Vollebergh W.A.; ESEMeD/MHEDEA 2000 Investigators, European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) Project. (2004) Prevalence of mental disorders in Europe: results from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) project. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 420:28-37.
- Alpert J.E., Silva R.R. y Pouget E.R. (2003) Prediction of treatment response in geriatric depression from baseline folate level: interaction with an SSRI or a tricyclic antidepressant. *J Clin Psychopharmacol*, 23:309-313.
- Amati A., Del Vecchio M., Kemali D., Perris C. y Vacca L. (1978) The comprehensive psychopathological rating scale (CPRS): communicability to, and inter-rater reliability among untrained raters. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 271:63-69.

## Bibliografía

- Ameisen J.C., Meade R. y Askenase P.W. (1989) A new interpretation of the involvement of serotonin in delayed-type hypersensitivity. Serotonin-2 receptor antagonists inhibit contact sensitivity by an effect on T cells. *J Immunol*, 142:3171-3179.
- American Psychiatric Association. (1980) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (3rd ed.). Washington D.C., USA: A.P.A. Press.
- American Psychiatric Association. (1994) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed.). Washington D.C., USA: A.P.A. Press.
- American Psychiatric Association. (2000) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed., Text Revised). Washington D.C., USA: A.P.A. Press.
- Andreasen N.C. (1983) The scale for the assessment of negative symptoms (SANS). Iowa City: University of Iowa.
- Andreasen N.C. (1984) The scale for the assessment of positive symptoms (SAPS). Iowa City: University of Iowa.
- Andreasen N.C., Arndt S., Alliger R., Miller D. y Flaum M. (1995) Symptoms of schizophrenia: methods, meanings and mechanisms. *Arch Gen Psychiatry*, 52:341-351.
- Anisman H., Kokkinidis L. y Merali Z. (2002) Further evidence for the depressive effects of cytokines: anhedonia and neurochemical changes. *Brain Behav Immun*, 16:544-56. Review.
- Anisman H. y Matheson K. (2005) Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neurosci Biobehav Rev*, 29:525-546. Review.
- Anisman H., Merali Z., Poulter M.O. y Hayley S. (2005) Cytokines as a precipitant of depressive illness: animal and human studies. *Curr Pharm Des*, 11:963-972. Review.
- Anji A., Sullivan Hanley N.R., Kumari M., y Hensler J.G. (2001) The role of protein kinase C in the regulation of serotonin-2A receptor expression. *J Neurochem*, 77:589-597.
- Anttila S.A. y Leinonen E.V. (2001) A review of the pharmacological and clinical profile of mirtazapine. *CNS Drug Rev*, 7:249-264. Review.
- Anttila S., Viikki M., Huuhka K., Huuhka M., Huhtala H., Rontu R., Lehtimäki T. y Leinonen E. (2009) TPH2 polymorphisms may modify clinical picture in treatment-resistant depression. *Neurosci Lett*, 464:43-46.
- Arnaud L., Ballif B.A. y Cooper J.A. (2003) Regulation of protein tyrosine kinase signaling by substrate degradation during brain development. *Mol Cell Biol*, 23:9293-9302.
- Arora R.C. y Meltzer H.Y. (1984) Imipramine binding in subpopulations of normal human blood platelets. *Biol Psychiatry*, 19:257-262.
- Arranz B., Eriksson A., Mellarup E., Pleenge P. y Marcusson J. (1994) Brain 5-HT1A, 5-HT1D, 5-HT2 receptors in suicide victims. *Biol Psychiatry*, 35:457-463.

## Bibliografía

- Arranz B., Rosel P., Sarró S., Ramirez N., Dueñas R., Cano R., María Sanchez J. y San L. (2003) Altered platelet serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor density but not second messenger inositol trisphosphate levels in drug-free schizophrenic patients. *Psychiatry Res*, 118:165-174.
- Arroll B., Macgillivray S. y Ogston S. (2005) Efficacy and tolerability of tricyclic antidepressants and SSRIs compared with placebo for treatment of depression in primary care: a meta-analysis. *Ann Fam Med*, 3:449-456.
- Axelrod J., Hertting G. y Patrick R.W. (1961) Inhibition of H<sub>3</sub>-norepinephrine release by monoamine oxidase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther*, 134:325-328.
- Axelrod J. e Inscoe J.K. (1963) The uptake and binding of circulating serotonin and the effect of drugs. *J Pharmacol Exp Ther*, 141:161-165.
- Axelrod J., Weil-Malherbe H. y Tomchick R. (1961) The physiological disposition of H<sub>3</sub>-epinephrine and its metabolite metanephrine. *J Pharmacol Exp Ther*, 127:251-256.
- Bai F., Yin T., Johnstone E.M., Su C., Varga G., Little S.P. y Nelson D.L. (2004) Molecular cloning and pharmacological characterization of the guinea pig 5-HT<sub>1E</sub> receptor. *Eur J Pharmacol*, 484:127-139.
- Bakish D., Cavazzoni P., Chudzik J., Ravindran A. y Hrdina P.D. (1997) Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on platelet serotonin parameters in major depressive disorder. *Biol Psychiatry*, 41:184-190.
- Blackshear M.A. y Sanders-Bush E. (1982) Serotonin receptor sensitivity after acute and chronic treatment with mianserin. *J Pharmacol Exp Ther*, 221:303-308.
- Ballinger J.C. (1999) Clinical guidelines for establishing remission in patients with depression and anxiety. *J Clin Psychiatry*, 60:29-34.
- Baños R.M., Perpiña C. y Botella C. (2005) La exploración psicopatológica. En V. Caballo (ed.) Manual para la evaluación cognitivo-conductual de los trastornos psicológicos. Madrid: Pirámide.
- Barnes N.M. y Sharp T. (2008) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38:1083-1152.
- Barker E.L., Kimmel H.L. y Blakely R.D. (1994) Chimeric human and rat serotonin transporter reveal domains involved in recognition of transporter ligands. *Mol Pharmacol*, 46:799-807.
- Barker E.L., Perlman M.A., Adkins E.M., Houlihan W.J., Pristupa Z.B., Niznik H.B. y Blakely R.D. (1998) High affinity recognition of serotonin transporter antagonists defined by species-scanning mutagenesis. An aromatic residue in transmembrane domain I dictates species-selective recognition of citalopram and mazindol. *J Biol Chem*, 273:19459-19468.
- Bauer M., Bschor T. y Kunz D. (2000) Double-blind, placebo-controlled trial of the use of lithium to augment antidepressant medication in continuation treatment of unipolar major depression. *Am J Psychiatry*, 157:1429-1435.

- Bauman A.L., Apparsundaram S. y Ramamoorthy S. (2000) Cocaine and antidepressant-sensitive biogenic amine transporters exist in regulated complexes with protein phosphatase 2A. *J Neurosci*, 20:7175-7178.
- Baumann B. y Bogerts B. (2001) Neuroanatomical studies on bipolar disorder. *Br J Psychiatry*, 41:142-147. Review.
- Baune B.T., Miller R., McAfoose J., Johnson M., Quirk F. y Mitchell D. (2010) The role of cognitive impairment in general functioning in major depression. *Psychiatry Res*, 176:183-189.
- Beffert U., Weeber E.J., Durudas A., Qiu S., Masiulis I., Sweatt J.D., Li W.P., Adelmann G., Frotscher M., Hammer R.E. y Herz J. (2005) Modulation of synaptic plasticity and memory by Reelin involves differential splicing of the lipoprotein receptor Apoer2. *Neuron*, 47:567-579.
- Belmaker R.H. y Agam G.N. (2008) Major depressive disorder. *Engl J Med*, 358:55-68. Review.
- Benazzi F. (2006) Various forms of depression. *Dialogues Clin Neurosci*, 8:151-161.
- Bengel D., Murphy D.L., Andrews A.M., Wichems C.H., Feltner D., Heils A., Mössner R., Westphal H. y Lesch K.P. (1998) Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3, 4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") in serotonin transporter-deficient mice. *Mol Pharmacol*, 53:649-655.
- Berenbaum, H. y Oltmanns T. E. (1992) Emotional experience and expression in schizophrenia and depression. *Journal of Abnormal Psychology*, 101:37- 44.
- Bernstein A.S. y Riedel J.A. (1987) Psychophysiological response patterns in college students with high physical anhedonia: scores appear to reflect schizotypy rather than depression. *Biol Psychiatry*, 22:829-847.
- Berrios J.M., Markova I.S. y Olivares J.M. (1995) Síntomas Mentales: Hacia Una Nueva Meta-Teoría. *Psiquiatría Biológica*, 2: 51-62.
- Berton O. y Nestler E.J. (2006) New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci*, 7:137-151.
- Bertschy G. (2009) Severe depression: recurrence and chronicity. *Encephale*, 7:257-260. Review.
- Bevan-Lewis W. (1899) Textbook of mental diseases. London: Charles Griffin y Co.
- Bhatnagar A., Sheffler D.J., Kroenke W.K. Compton-Toth B. y Roth B.L. Caveolin-1 interacts with 5-HT<sub>2A</sub> serotonin receptors and profoundly modulates the signaling of selected G<sub>α</sub>q-coupled protein receptors. *J Biol Chem*, 279:34614-34623.
- Biomarkers Definitions Working Group. (2001) Biomarkers and surrogate endpoints preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*, 69:89-95.
- Björk K., Sjögren B. y Svenningsson P. (2010) Regulation of serotonin receptor function in the nervous system by lipid rafts and adaptor proteins. *Exp Cell Res*, 316:1351-1356.



## Bibliografía

- Blakely R.D., Berson H.E., Fremeau R.T. Jr., Caron M.G., Peek M.M., Prince H.K. y Bradley C.C. (1991) Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain. *Nature*, 354:66-70.
- Blakely R.D., Ramamoorthy S., Schroeter S., Qian Y., Apparsundaram S., Galli A. y DeFelice L.J. (1998) Regulated phosphorylation and trafficking of antidepressant-sensitive serotonin transporter proteins. *Biol Psychiatry*, 44:169-178. Review.
- Blazer D.G., Kessler R.C., McGonagle K.A. y Swartz M.S. (1993) The prevalence and distribution of major depression in a national community sample: the National Comorbidity Survey. *Am J Psychiatry*, 151: 979-986.
- Bleuler E. (1911) *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*. Traducido por Zinkin J. (1950) New York: International Universities Press.
- Blier P. y Ward N.M. (2003) Is there a role for 5-HT<sub>1A</sub> agonists in the treatment of depression? *Biol Psychiatry*, 53:193-203.
- Bobes J., Bulbena A., Luque A., Dal-Ré R., Ballesteros J. e Ibarra N. (2003) Evaluación psicométrica comparativa de las versiones en español de 6, 17 y 21 ítems de la Escala de valoración de Hamilton para la evaluación de la depresión. *Med Clin*, 120: 693-700.
- Brigman J.L., Padukewicz K.E., Sutherland M.L. y Rothblat L.A. (2006) Executive functions in the heterozygous reeler mouse model of schizophrenia. *Behav Neurosci*, 120:984-988.
- Brim J, Wetzel R.D., Reich T., Wood D., Viesselman J. y Rutt C. (1984) Primary and secondary affective disorder: Part III. Longitudinal differences in depression symptoms. *J Clin Psychiatry*, 45:64-79.
- Bryan-Lluka L.J., Papakostas M.H., Paczkowski F.A. y Wanstall J.C. (2004) Nitric oxide donors inhibit 5-hydroxytryptamine (5-HT) uptake by the human 5-HT transporter (SERT). *Br J Pharmacol*, 143:63-70.
- Burke H.M., Davis M.C., Otte C. y Mohr D.C. (2005) Depression and cortisol responses to psychological stress: a meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 30:846-856. Review.
- Cadogan A.K., Marsden C.A., Tulloch I. y Kendall D.A. (1993) Evidence that chronic administration of paroxetine or fluoxetine enhances 5-HT<sub>2</sub> receptor function in the brain of the guinea pig. *Neuropharmacology*. 32:249-256.
- Callagher P., Malik N., Newham J., Young A.H., Ferrier I.N. y Mackin P. (2008) Antiglucocorticoid treatments for mood disorders. *Cochrane Data Syst Rev*, 23:CD005168.
- Cannon M., Ichise M, Gandhi S., Charney D., Manji H. y Drevets W. (2007) Elevated serotonin transporter binding in major depressive disorder assessed using positron emission tomography and [<sup>11</sup>C] DASB; comparison with bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, 62: 870-877.
- Cannon T.D. y Keller M.C. (2006) Endophenotypes in the genetic analyses of mental disorders. *Annu Rev Clin Psychol*, 2:267-290.

## Bibliografía

- Cappiello A., McDougle C.J. y Delgado P.L. (1998) Lithium and desipramine versus desipramine alone in the treatment of severe major depression: a preliminary study. *Int Clin Psychopharmacol*, 13:191-198.
- Capuron L., Dantzer R. y Miller A.H. (2003) Neuro-immune interactions in psychopathology with the example of interferon-alpha-induced depression. *J Soc Biol*, 197:151-156.
- Carneiro A.M. y Blakely R.D. (2006) Serotonin-, protein kinase C-, and Hic-5-associated redistribution of the platelet serotonin transporter. *J Biol Chem*, 281:24769-24780.
- Carnoy P., Soubrie P., Puech A.J. y Simon P. (1986) Performance deficit induced by low doses of dopamine agonists in rats. Toward a model for approaching the neurobiology of negative schizophrenic symptomatology? *Biol Psychiatry*, 21:11-22.
- Carpenter W.T., Heinrichs D.W. y Wagman A.M. (1988) Deficit and non deficit forms of schizophrenia: the concept. *Am J Psychiatry*, 145:578-583.
- Carson W.H., Kitagawa H. y Nemeroff C.B. (2004) Drug development for anxiety disorders: new roles for atypical antipsychotics. *Psychopharmacol Bull*, 38:38-45.
- Caruncho H.J., Dopeso-Reyes I.G., Loza M.I. y Rodríguez M.A. (2004) A GABA, reelin, and the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Crit Rev Neurobiol*, 16:25-32.
- Caspi A., Sugden K. y Moffitt T.E. (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 301:386-389.
- Cedeño N., Urbina M., Obregón F. y Lima L. (2005) Characterization of serotonin transporter in blood lymphocytes of rats. Modulation by in vivo administration of mitogens. *J Neuroimmunol*, 159:31-40.
- Celada P., Puig M., Amargós-Bosch M., Adell A. y Artigas F. (2004) The therapeutic role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in depression. *J Psychiatry Neurosci*. 29:252-265. Review.
- Chaffoy de Courcelles D., Roevens P., Wynants J. y Van Belle H. (1987) Serotonin-induced alterations in inositol phospholipid metabolism in human platelets. *Biochim Biophys Acta*, 927:291-302.
- Chang A.S. y Lam D.M. (1998) Mechanistic analyses of ion dependences in a high-affinity human serotonin transport system in transfected murine fibroblast cells. *J Physiol*, 510:903-913.
- Chang T. y Fava M. (2010) The future of psychopharmacology of depression. *J Clin Psychiatry*, 71:971-975.
- Chapman L.J., Chapman J.P. y Raulin M.L. (1976) Scales for physical and social anhedonia. *J Abnorm Psychol*, 85:378-382.
- Chen J.X., Pan H., Rothman T.P., Wade P.R. y Gershon M.D. (1997) Guinea pig 5-HT transporter: cloning, expression, distribution, and function in intestinal sensory reception. *J Physiol*, 275:G433-448.

- Cheng Y., Qin J., Cai J. y Chen Z.W. (2009) Cold induces micro- and nano-scale reorganization of lipid raft markers at mounds of T-cell membrane fluctuations. *PLoS One*, 4: e5386.
- Clouston T.S. (1887) Clinical lectures in mental diseases. London: Churchill.
- Collier D.A., Stöber G., Li T., Heils A., Catalano M., Di Bella D., Arranz M.J., Murray R.M., Vallada H.P., Bengel D., Müller C.R., Roberts G.W., Smeraldi E., Kirov G., Sham P. y Lesch K.P. (1996) A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. *Mol Psychiatry*, 1:453-460.
- Cook E.H. Jr., Fletcher K.E., Wainwright M., Marks N., Yan S.Y. y Leventhal B.L. (1994) Primary structure of the human platelet serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor: identify with frontal cortex serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor. *J Neurochem*, 63:465-469.
- Coryell W., Endicott J., Maser J.D., Keller M.B., Leon A.C. y Akiskal H.S. (1995) Long-term stability of polarity distinctions in the affective disorders. *Am J Psychiatry*, 152:385-390.
- Coryell W., Gaffney G. y Burkhardt P.E. (1982) DSM-III melancholia and the primary-secondary distinction: a comparison of concurrent validity by means of the dexamethasone suppression test. *Am J Psychiatry*, 139:120-122.
- Coyle J.T. y Duman R.S. (2003) Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. *Neuron*, 38:157-160.
- Costa E., Davis J., Pesold C., Tueting P. y Guidotti A. (2002) The heterozygote reeler mouse as a model for the development of a new generation of antipsychotics. *Curr Opin Pharmacol*, 2:56-62. Review.
- Crismon M.L., Trivedi M. y Pigott T.A. The Texas Medication Algorithm Project: report of the Texas Consensus Conference Panel on Medication Treatment of Major Depressive Disorder. *J Clin Psychiatry*, 60:142-156.
- Cryan J.F., Redmond A.M., Kelly J.P. y Leonard B.E. (1997) The effects of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist flesinoxan, in three paradigms for assessing antidepressant potential in the rat. *Eur Neuropsychopharmacol*, 7:109-114.
- Cuijpers P., van Straten A., Andersson G. y van Oppen P. (2008b) Psychotherapy for depression in adults: a meta-analysis of comparative outcome studies. *J Consult Clin Psychol*, 76:909-922.
- Cuijpers P., van Straten A., van Oppen P. y Andersson G. (2008a) Are psychological and pharmacologic interventions equally effective in the treatment of adult depressive disorders? A meta-analysis of comparative studies. *J Clin Psychiatry*, 69:1675-1685.
- D'Arcangelo G. (2005) The reeler mouse: anatomy of a mutant.. *Int Rev Neurobiol*, 71:383-417. Review.
- D'Arcangelo G. (2006) Reelin mouse mutants as models of cortical development disorders. *Epilepsy Behav*, 8:81-90.

- D'Arcangelo G, Curran T. (1998) Reeler: new tales on an old mutant mouse. *Bioessays*, 20:235-244.
- D'Arcangelo G., Miao G.G., Chen S.C., Soares H.D., Morgan J.I. y Curran T. (1995) A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler. *Nature*, 374:719-723.
- Davidson C, y Stamford J.A. (2000) Effect of chronic paroxetine treatment on 5-HT1B and 5-HT1D autoreceptors in rat dorsal raphe nucleus. *Neurochem Int*, 36:91-96.
- De Matt S.M., Dekker J., Schoevers R.A. y de Jonghe F. (2007) Relative efficacy of psychotherapy and combined therapy in the treatment of depression: a meta-analysis. *Eur Psychiatry*, 22:1-8.
- De Vane C.L., Grothe D.R. y Smith S.L. (2002) Pharmacology of antidepressants: focus on nefazodone. *J Clin Psychiatry*, 63:10-17.
- Deeks E.D. y Keating G.M. (2008) Olanzapine/fluoxetine: a review of its use in the treatment of acute bipolar depression. *Drug*, 68:1115-1137.
- Deltheil T., Guiard B.P., Cerdan J., David D.J., Tanaka K.F., Repérant C., Guilloux J.P., Coudoré F., Hen R. y Gardier A.M. (2008) Behavioral and serotonergic consequences of decreasing or increasing hippocampus brain-derived neurotrophic factor protein levels in mice. *Neuropharmacology*, 55:1006-1114.
- Donati R.J. y Rasenick M.M. (2003) G protein signaling and the molecular basis of antidepressant action. *Life Sci*, 73:1-17. Review.
- Dong E., Caruncho H., Liu W.S., Smalheiser N.R., Grayson D.R., Costa E. y Guidotti A. (2003) A reelin-integrin receptor interaction regulates Arc mRNA translation in synaptoneurosome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100:5479-5484.
- Drago A., De Ronchi D. y Serretti A. (2009) Pharmacogenetics of antidepressant response: an update. *Hum Genomics*, 3:257-274.
- Dubal S, Pierson A, Jouvent R. (2000) Focused attention in anhedonia: a P3 study. *Psychophysiology*, 37:711-714.
- Dunlop B.W. y Nemeroff C.B. (2007) The role of dopamine in the psychopathology of depression. *Arch Gen Psychiatry*, 64:327-337.
- Dursun S.M., Bird D., y Ronson K.E. (2002) Nefazodone treatment of dysthymic disorder an open, long-term, prospective pilot study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 26:671-676.
- Dustin M.L. y Colman D.R. (2002) Neural and immunological synaptic relations. *Science*, 298:785-789.
- Dwivedi Y., Janicak P.G. y Pandey G.N. (1998) Elevated [3H] inositol 1,4,5-trisphosphate binding sites and expressed inositol 1,4,5-trisphosphate receptor protein level in platelets of depressed patients. *Psychopharmacology*, 138:41-54.

- Eastwood S.L. y Harrison P.J. (2003) Interstitial white matter neurons express less reelin and are abnormally distributed in schizophrenia: towards an integration of molecular and morphologic aspects of the neurodevelopmental hypothesis. *Mol Psychiatry*, 8:821–831.
- Ehehalt R., Keller P., Haass C., Thiele C. y Simons K. (2003) Amyloidogenic processing of the Alzheimer beta-amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J Cell Biol*, 160:113-123.
- Eisensamer B., Uhr M., Meyr S., Gimpl G., Deiml T., Rammes G., Lambert J.J., Zieglgänsberger W., Holsboer F. y Rupprecht R. (2005) Antidepressants and antipsychotic drugs colocalize with 5-HT<sub>3</sub> receptors in raft-like domains. *J Neurosci*, 25:10198-10206.
- Fabre V., Beaufour C., Evrard A., Rioux A., Hanoun N., Lesch K.P., Murphy D.L., Lanfumey L., Hamon M., Martres M.P. (2000) Altered expression and functions of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in knock-out mice lacking the 5-HT transporter. *Eur J Neurosci*, 12:2299-2310.
- Falconer D.S. (1951) 2 new mutants, trembler and reeler, with neurological actions in the house mouse (*mus-musculus* l). *J Genet*, 50:192-201.
- Falret J.P. (1851) De la folie circulaire ou forme de maladie mentale caracterisee par l'alternative reguliere de la manie et de la melancolie. *Bull Acad Natl Med* (Paris).
- Faraj B.A., Olkowski Z.L. y Jackson R.T. (1994) Expression of a high-affinity serotonin transporter in human lymphocytes. *Int J Immunopharmacol*, 16:561-567.
- Fatemi S.H. (2001b) Reelin mutations in mouse and man: from reeler mouse to schizophrenia, mood disorders, autism and lissencephaly. *Mol Psychiatry*, 6:129–133.
- Fatemi S.H. (2002) The role of Reelin in pathology of autism. *Molecular Psychiatry*, 7:919–920.
- Fatemi S.H., Earle J.A. y McMenomy T. (2000) Reduction in Reelin immunoreactivity in hippocampus of subjects with schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Mol Psychiatry*, 5:654-663.
- Fatemi S.H., Kroll J.L. y Stry J.M. (2001a) Altered levels of Reelin and its isoforms in schizophrenia and mood disorders. *Neuroreport*, 12:3209-3215.
- Fatemi S.H., Snow A.V., Stry J.M., Araghi-Niknam M., Reutiman T.J., Lee S., Brooks A.I. y Pearce D.A. (2005a) Reelin signaling is impaired in autism. *Biol Psychiatry*, 57:777–787.
- Fatemi S.H., Stry J.M., Earle J.A., Araghi-Niknam M. y Eagan E. (2005b) GABAergic dysfunction in schizophrenia and mood disorders as reflected by decreased levels of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa and Reelin proteins in cerebellum. *Schizophr Res*, 72:109-122.
- Fatemi S.H., Stry J.M., Halt A.R. y Realmuto G.R. (2001c) Dysregulation of reelin and Bcl-2 proteins in autistic cerebellum. *J Autism Dev Disord*, 31:529–535.
- Fava M. y Kendler K.S. (2000) Major depressive disorder. *Neuron*, 28:335-341.

## Bibliografía

- Fava M., Rush A.J., Trivedi M.H., Nierenberg A.A., Thase M.E., Sackeim H.A., Quitkin F.M., Wisniewski S., Lavori P.W., Rosenbaum J.F. y Kupfer D.J. (2003) Background and rationale for the sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR\*D) study. *Psychiatr Clin North Am*, 26:457-494.
- Fawcett J., Clark D.C., Scheftner W.A. y Gibbons R.D. (1983a) Assessing anhedonia in psychiatric patients. *Arch Gen Psychiatry*, 40:79-84.
- Fawcett J., Clark C., Scheftner W.A. y Hedeker D. (1983b) Differences between anhedonic and normally hedonic depressive states. *Am J Psychiatry*, 140:1027-1030.
- Fazzino F., Montes C., Urbina M., Carreira I. y Lima L. (2008) Serotonin transporter is differentially localized in subpopulations of lymphocytes of major depression patients. Effect of fluoxetine on proliferation. *J Neuroimmunol*, 196:173-180.
- Feldman D.J., Frank R.A., Kehne J.H., Flannery R., Brown D., Soni S., Byrd G. y Shah S. (1997) Mixed D2/5-HT2 antagonism differentially affects apomorphine- and amphetamine-induced stereotyped behavior. *Pharmacol Biochem Behav*, 58:565-572.
- Ferguson J.M., Mendels J. y Schwart G.E. (2002) Effects of reboxetine on Hamilton Depression Rating Scale factors from randomized, placebo-controlled trials in major depression. *Int Clin Psychopharmacol*, 17:45-51.
- Ferrier I.N., McKeith I.G., Cross A.J., Perry E.K., Candy J.M. y Perry R.H. (1986) Postmortem neurochemical studies in depression. *Ann N Y Acad Sci*, 487:128-142.
- First M.B., Spitzer R.L., Gibbon M. y Williams, J.B.W. (1999). *Entrevista Clínica Estructurada para los Trastornos del Eje I del DSM-IV*. Barcelona: Masson.
- Fisar Z. y Raboch J. (2008) Depression, antidepressant and peripheral blood components. *Neurol Endocrinol Lett*, 29:7-28.
- Fournier J.C., DeRubeis R.J., Hollon S.D., Dimidjian S., Amsterdam J.D., Shelton R.C. Y Fawcett J. (2010) Antidepressant drug effects and depression severity: a patient-level meta-analysis. *JAMA*, 303:47-53.
- Fozard J.R. y Kalkman H.O. (1992) 5-HT in nervous system disease and migraine. *Curr Opin Neurol Neurosurg*, 5:496-502. Review.
- Frank E, Prien R.F., Jarrett R.B., Keller M.B., Kupfer D.J. y Lavori P.W. (1991) Conceptualization and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. Remission, recovery, relapse, and recurrence. *Arch Gen Psychiatry*, 48: 851-855.
- Franken I.H., Van Strien J.W. y Nijs I.M. Effect of hedonic tone on event-related potential measures of cognitive processing. *Psychiatry Res*, 142:233-239.
- Frazer A. y Hensler J.G. (1990) 5-HT<sub>1A</sub> receptors and 5-HT<sub>1A</sub>-mediated responses: effect of treatments that modify serotonergic neurotransmission. *Ann N Y Acad Sci*, 600:460-474.

- Gandolfi O., Barbaccia M.L. y Costa E. (1984) Comparison of iprindole, imipramine and mianserin action on brain serotonergic and beta adrenergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 229:782-786.
- Gareri P., Falconi U., De Fazio P. y De Sarro G. (2000) Conventional and new antidepressant drugs in the elderly. *Prog Neurobiol*, 61:353-396. Review.
- Geaney D.P., Schächter M., Elliot J.M. y Grahame-Smith D.G. (1984) Characterisation of [3H]lysergic acid diethylamide binding to a 5-hydroxytryptamine receptor on human platelet membranes. *Eur J Pharmacol*, 97:87-93.
- Gelenberg A.J. (2010) A review of the current guidelines for depression treatment.. *J Clin Psychiatry*. 71:e15. Review.
- Gershon G., Hamovitt J. y Guroff J. J. (1982) A family study of schizoaffective, bipolar I, bipolar II, unipolar, and normal control probands. *Arch Gen Psychiatry*, 39:1157-1167.
- Gershon M.D. (2003) Plasticity in serotonin control mechanisms in the gut.. *Curr Opin Pharmacol*, 3:600-607. Review.
- Ghaemi S.N., Rosenquist K.J, Ko J.Y., Baldassano C.F., Kontos N. J. y Baldessarini R.J. (2004) Antidepressant treatment in bipolar versus unipolar depression. *Am J Psychiatry*, 161:163-165.
- Gilerovich E.G. y Grigor'ev I.P. (2005) Gaba- and serotonin-immunoreactive structures and Ca<sup>2+</sup>-binding protein in the neocortex of the reeler mouse mutant. *Neurosci Behav Physiol*, 35:887-890.
- Gómez-Gil E., Gastó C., Díaz-Ricart M., Carretero M., Salamero M., Catalán R. y Escolar G. (2002) Platelet 5-HT<sub>2A</sub>-receptor-mediated induction of aggregation is not altered in major depression. *Hum Psychopharmacol*, 17:419-424.
- Gonul A.S., Akdeniz F., Donat O., Eker C. y Vahip S. (2005) Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 255:381-386.
- Goodnough D.B. y Baker G.B. (1994) 5-Hydroxytryptamine<sub>2</sub> and beta-adrenergic receptor regulation in rat brain following chronic treatment with desipramine and fluoxetine alone and in combination. *J Neurochem*, 62:2262-2268.
- Goodwin F.K. y Jamison K.R. (1990) Manic-Depressive Illness. New York: Oxford University Press.
- Goodwin G.M., Green A.R. y Johnson P. (1984) 5-HT<sub>2</sub> receptor characteristics in frontal cortex and 5-HT<sub>2</sub> receptor-mediated head-twitch behaviour following antidepressant treatment to mice. *Br J Pharmacol*, 83:235-242.
- Gray J.A., Sheffler D.J., Bhatnagar A., Woods J.A., Hufeisen S.J., Benovic J.L. y Roth B.L. (2001) Cell-type specific effects of endocytosis inhibitors on 5-hydroxytryptamine(2A) receptor desensitization and resensitization reveal an arrestin-, GRK2-, and GRK5-

## Bibliografía

- independent mode of regulation in human embryonic kidney 293 cells. *Mol Pharmacol*, 60:1020-1030.
- Gray J.A. y Roth B.L. (2001) Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT<sub>2A</sub> receptors by agonists and antagonists. *Brain Res Bull*, 56:441-451.
- Greenberg B.D. y Rezaei A.R. (2003) Mechanisms and the current state of deep brain stimulation in neuropsychiatry. *CNS Spectr*, 8:522-6. Review.
- Green-Johnson J.M., Zalcman S., Vriend C.Y., Nance D.M. y Greenberg H. (1995) Suppressed T cell and macrophage function in the 'reeler' (rl/rl) mutant, a murine strain with elevated cerebellar norepinephrine concentration. *Brain Behav Immun*, 9:47-60.
- Groc L., Choquet D., Stephenson F.A., Verrier D., Manzoni O.J. y Chavis P. (2007) NMDA receptor surface trafficking and synaptic subunit composition are developmentally regulated by the extracellular matrix protein reelin. *J Neurosci*, 27:10165-10175.
- Gross-Isseroff R., Biegon A., Voet H. y Weizman A. (1998) The suicide brain: a review of postmortem receptor/transporter binding studies. *Neurosci Biobehav Rev*, 22:653-661.
- Grotewiel M.S. y Sanders-Bush E. (1994) Regulation of serotonin<sub>2A</sub> receptors in heterologous expression systems. *J Neurochem*, 63:1255-1260.
- Guidi J, Fava G.A, Bech P. y Paykel E. (2010) The clinical Interview for Depression: a comprehensive review of studies and clinimetric properties. *Psychother Psychosom*, 80:10-27.
- Guidotti A., Auta J., Davis J.M., Di-Giorgi-Gerevini V., Dwivedi Y., Grayson D.R., Impagnatiello F., Pandey G., Pesold C., Sharma R., Uzunov D. y Costa E. (2000) Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Arch Gen Psychiatry*, 57:1061-1069.
- Haase J., Killian A.M., Magnani F. y Williams C. (2001) Regulation of the serotonin transporter by interacting proteins. *Biochem Soc Trans*, 29:722-728.
- Haddley K., Vasiliou A.S., Ali F.R., Paredes U.M., Bubb V.J. y Quinn J.P. (2008) Molecular genetics of monoamine transporters: relevance to brain disorders. *Neurochem Res*, 33:652-667. Review.
- Häfner H., Maurer K., Trendler G., an der Heiden W., Schmidt M. y Könnecke R. (2005) Schizophrenia and depression: challenging the paradigm of two separate diseases: a controlled study of schizophrenia, depression and healthy controls. *Schizophr Res*, 77:11-24.
- Hall H., Ross S.B. y Sällemark M. (1984) Effect of destruction of central noradrenergic and serotonergic nerve terminals by systemic neurotoxins on the long-term effects of antidepressants on beta-adrenoceptors and 5-HT<sub>2</sub> binding sites in the rat cerebral cortex. *J Neural Transm*, 59:9-23.
- Hamilton M. (1960) A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 23:56-62.



- Hanley N.R. y Hensler J.G. (2002) Mechanisms of ligand-induced desensitization of the 5-hydroxytryptamine(2A) receptor. *J Pharmacol Exp Ther.* 300:468-477.
- Hansen R.A., Gartlehner G., Lohr K.N., Gaynes B.N. y Carey T.S. (2005) Efficacy and safety of second-generation antidepressants in the treatment of major depressive disorder. *Ann Intern Med*, 143:415-426.
- Hardy P. (2009) Severe depression: morbidity-mortality and suicide. *Encephale*, 35:S269-S271. Review.
- Hartmann M., Heumann R. y Lesmann V. (2001) Synaptic secretion of BDNF after high-frequency stimulation of glutaminergic synapses. *EMBO J*, 20:5877-5897.
- Hausmann A. y Fleischhacker W.W. (2002) Differential diagnosis of depressed mood in patients with schizophrenia: a diagnostic algorithm based on a review. *Acta Psychiatr Scand*, 106: 83-96.
- Heim C. y Nemeroff C.B. (2001) The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry*, 49:1023-1039.
- Hellstrand K. y Hermodsson S. (1993) Serotonergic 5-HT<sub>1A</sub> receptors regulate a cell contact-mediated interaction between natural killer cells and monocytes. *Scand J Immunol*, 37:7-18.
- Henn F.A. y Vollmayr B. (2005) Stress models of depression: forming genetically vulnerable strains. *Neurosci Biobehav Rev*, 29:799-804. Review.
- Herrick T.M. y Cooper J.A. (2002) A hypomorphic allele of *dab1* reveals regional differences in reelin-Dab1 signaling during brain development. *Development*, 129:787-796.
- Herz J. y Chen Y. (2006) Reelin, lipoprotein receptors and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 7:850-859. Review.
- Hoffman B.J., Mezey E. y Brownstein M.J. (1991) Cloning of a serotonin transporter affected by antidepressants. *Science*, 254:579-580.
- Hollon S.D., Shelton R.C. y Wisniewski S. (2006) Presenting characteristics of depressed outpatients as a function of recurrence: Preliminary findings from the STAR\*D clinical trial. *J Psychiatr Res*, 40:59-69.
- Holsboer F. (2008) How can we realize the promise of personalized antidepressant medicines? *Nat Rev Neurosci*, 9:638-646.
- Horan W. P., Kring A.M. y Blanchard J.J. (2005) Anhedonia in Schizophrenia: A Review of Assessment Strategies. *Schizophr Bull*, 32:259-273.
- Horschitz S., Hummerich R. y Schloss P. (2001) Down-regulation of the rat serotonin transporter upon exposure to a selective serotonin reuptake inhibitor. *Neuroreport*, 12:2181-2184.
- Hortmann S. y Binder E.B. (2009) Pharmacogenomics of antidepressant drugs. *Pharmacol Ther*, 24:57-73.

- Hoyer D., Clarke D.E., Fozard J.R., Hartig P.R., Martin G.R., Mylecharane E.J., Saxena P.R. y Humphrey P.P. (1994) International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev*, 46:157-203.
- Hoyer D., Pazos A., Probst A. y Palacios J.M. (1986) Characterization and autoradiographic localization of 5-HT<sub>1C</sub> and 5-HT<sub>2</sub> recognition sites. *Brain Res*, 376:97-107.
- Hrdina P.D. y Vu T.B. (1993) Chronic fluoxetine treatment upregulates 5-HT uptake sites and 5-HT<sub>2</sub> receptors in rat brain: an autoradiographic study. *Synapse*, 14:324-331.
- Huang T.L. Leu H.S. y Liu J.W. (2006) Lymphocyte subsets and viral load in male AIDS patients with major depression: naturalistic study. *Psychiatry Clin Neurosci*, 60:687-692.
- Hünnerkopf R., Grassl J. Thome J. (2007) Proteomics: biomarker research in psychiatry. *Fortschr Neurol Psychiatry*, 75:579-586.
- Iga J., Ueno S., Yamauchi K., Motoki I., Tayoshi S., Ohta K., Song H., Morita K., Rokutan K. y Ohmori T. (2005) Serotonin transporter mRNA expression in peripheral leukocytes of patients with major depression before and after treatment with paroxetine. *Neurosci Lett*, 389:12-16.
- Impagnatiello F., Guidotti A. y Pesold C. Dwivedi Y., Caruncho H., Pisu M.G., Uzunov D.P., Smalheiser N.R., Davis J.M., Pandey G.N., Pappas G.D., Tueting P., Sharma R.P. y Costa E. (1998) A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95:15718-15723.
- Inoue M., Okazaki T., Kitazono T., Mizushima M., Omata M. y Ozaki S. (2011) Regulation of antigen-specific CTL and Th1 cell activation through 5-Hydroxytryptamine 2A receptor. *Int Immunol*, 11:67-73.
- Ioannidis J.P. (2008) Effectiveness of antidepressants: an evidence myth constructed from a thousand randomized trials? *Philos Ethics Humanit Med*, 3:14.
- Iqbal N. y van Praag H.M. (1995) The role of serotonin in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*, 5:11-23. Review.
- Irwin M. (1999) Immune correlates of depression. *Adv Exp Med Biol*, 461:1-24. Review.
- Isometsä E.T., Henriksson M.M., Aro H.M., Heikkinen M.E., Kuoppasalmi K.I. y Lönnqvist J.K. (1994) Suicide in major depression. *J Affect Disord*, 151:530-536.
- Iversen L. (2000) Neurotransmitter transporters: fruitful targets for CNS drug discovery. *Mol Psychiatry*, 5:357-362.
- Jackson S.W. (1986) Melancholia and depression: From Hippocratic times to modern times. New Haven: Yale University Press.
- Jess U., El Far O., Kirsch J. y Betz H. (2002) Interaction of the C-terminal region of the rat serotonin transporter with MacMARCKS modulates 5-HT uptake regulation by protein kinase C. *Biochem Biophys Res Commun*, 29:272-279.

- Joffe R.T., Singer W. y Levitt A.J. (1993) A placebo-controlled comparison of lithium and triiodothyronine augmentation of tricyclic antidepressants in unipolar refractory depression. *Arch Gen Psychiatry*, 50:387–393.
- Joiner T.E., Brown J.S. y Metalsky G.I. (2003) A test of the tripartite model's prediction of anhedonia's specificity to depression: patients with major depression versus patients with schizophrenia. *Psychiatry Res*, 119:243-250.
- Jonnakuty C. y Gragnoli C. (2008) What do we know about serotonin? *J Cell Physiol*, 217:301-316. Review.
- Jorgensen H.S. (2007) Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Dan Med Bull*, 54:266-288.
- Joyce P.R. y Paykel E.S. (1989) Predictors of drug response in depression. *Arch Gen Psychiatry*, 146: 89-99.
- Judd L.L., Schettler P.J. y Akiskal H.S. (2002) The prevalence, clinical relevance, and public health significance of subthreshold depressions. *Psychiatr Clin North Am*, 25:685-698. Review.
- Just H., Sitte H.H., Schmid J.A., Freissmuth M. y Kudlacek O. (2004) Identification of an additional interaction domain in transmembrane domains 11 and 12 that supports oligomer formation in the human serotonin transporter. *J Biol Chem*, 279:6650–6657.
- Kagaya A., Mikuni M., Kusumi I., Yamamoto H. y Takahashi K. (1990) Serotonin-induced acute desensitization of serotonin<sub>2</sub> receptors in human platelets via a mechanism involving protein kinase C. *J Pharmacol Exp Ther*, 255:305–311.
- Kahlbaum K. (1963) Die Gruppierung der Psychischen Krankheiten und die Eintheilung der Seelenstörungen. AW Kafemann: Danzing.
- Kalueff A.V., Gallagher P.S. y Murphy D.L. (2006) Are serotonin transporter knockout mice 'depressed'? : hypoactivity but no anhedonia. *Neuroreport*, 17:1347-1351.
- Kaplan S. y Lester D. (1994) Depression, mania, and suicidal preoccupation. *Psychol*, 74:974.
- Karege F., Perret G., Bondolfi G., Schwald M., Bertschy G. y Aubry J.M. (2002) Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res*, 109:143-148.
- Kasper S., Giamal N. y Hilger E. (2000) Reboxetine: the first selective noradrenaline re-uptake inhibitor. *Expert Opin Pharmacother*, 1:771-782.
- Katon W.J. (2003) Clinical and health services relationships between major depression, depressive symptoms, and general medical illness. *Biol Psychiatry*, 54:216-226.
- Katona C.L., Abou-Saleh M.T. y Harrison D.A. (1995) Placebo-controlled trial of lithium augmentation of fluoxetine and lofepramine. *Br J Psychiatry*, 166:80–86.

## Bibliografía

- Kazdin A.E. (1989) Evaluation of the Pleasure Scale in the assessment of anhedonia in children. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 28:364-372.
- Keller M.B., Lavori P.W., Mueller T.I., Endicott J., Coryell W., Hirschfeld R.M. y Shea T. (1992) Time to recovery, chronicity, and levels of psychopathology in major depression. A 5-year prospective follow-up of 431 subjects. *Arch. Gen. Psychiatry*, 49: 809–816.
- Keller M.B., Trivedi M.H., Thase M.E., Shelton R.C., Kornstein S.G., Nemeroff C.B., Friedman E.S., Gelenberg A.J., Kocsis J.H., Dunner D.L., Hirschfeld R.M., Rothschild A.J., Ferguson J.M., Schatzberg A.F., Zajecka J.M., Pedersen R.D., Yan B., Ahmed S., Musgnung J. y Ninan P.T. (2007) The Prevention of Recurrent Episodes of Depression with Venlafaxine for Two Years (PREVENT) Study: Outcomes from the 2-year and combined maintenance phases. *J Clin Psychiatry*, 68:1246-1256.
- Kendall D.A., Stancel G.M. y Enna S.J. (1982) The influence of sex hormones on antidepressant-induced alterations in neurotransmitter receptor binding. *J Neurosci*, 2:354-360.
- Kendler K.S., Kuhn J.W., Vittum J., Prescott C.A. y Riley B. (2005) The interaction of stressful life events and a serotonin transporter polymorphism in the prediction of episodes of major depression: a replication. *Arch Gen Psychiatry*, 62:529-535.
- Kendler K.S., Thornton L.M. y Gardner C.O. (2000) Stressful life events and previous episodes in the etiology of major depression in women: an evaluation of the “kindling” hypothesis. *Am J Psychiatry*, 157:1243-1251.
- Kessler R.C., Barker P.R., Colpe L.J., Epstein J.F., Gfroerer J.C., Hiripi E., Howes M.J., Normand S-L.T., Manderscheid R.W., Walters E.E. y Zaslavsky A.M. (2003a) Screening for serious mental illness in the general population. *Arch Gen Psychiatry*, 60:184–189.
- Kessler R.C., Blazer D.G. y McGonagle K.A. (1994) The prevalence and distribution of major depression in a national community sample: the National Comorbidity Survey. *Am J Psychiatry*, 151:979-986.
- Kessler R.C., Berglund P., Demler O., Jin R., Koretz D., Merikangas K.R., Rush A.J., Walters E.E., Wang P.S; National Comorbidity Survey Replication (2003b) The epidemiology of major depressive disorder: Results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA*, 289: 3095-3105.
- Kirsch I., Deacon B.J., Huedo-Medina T.B., Scoboria A., Moore T.J. y Johnson B.T. (2008) Initial severity and antidepressant benefits: a meta-analysis of data submitted to the Food and Drug Administration. *PLoS Med*, 5:e45.
- Kilty J.E., Lorang D. y Amara S.G. (1991) Cloning and expression of a cocaine-sensitive rat dopamine transporter. *Science*, 254:578-579.
- Klein D.F. (1974) Endogenomorphic depression. A conceptual and terminological revision. *Arch Gen Psychiatry*, 31:447:454.
- Klein D.F. (1987) Depression and anhedonia. En Clark D.C. y Fawcett J (ed.): Anhedonia and Affect Deficit States. New York: PMA Publishing Corp.

- Klein D.N., Shankman S.A. y Rose S. (2006) Ten-year prospective follow-up study of the naturalistic course of dysthymic disorder and double depression. *Am J Psychiatry*, 163:872-880.
- Klimek V., Zak-Knapik J. y Mackowiak M. (1994) Effects of repeated treatment with fluoxetine and citalopram, 5-HT uptake inhibitors, on 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors in the rat brain. *J Psychiatry Neurosci*, 19:63-67.
- Knable M.B., Barci B.M., Webster M.J., Meador-Woodruff J. y Torrey E.F. (2004) Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: postmortem findings from the Stanley Neuropathology Consortium. *Mol Psychiatry*, 9:609-620.
- Koch J.M., Kell S., Honze-Selch D. y Aldenhoff J.B. (2002) Changes in CREB-phosphorylation during recovery from major depression. *J Psychiatry Res*, 36:369-375.
- Kocsis J.H. (2006) Depression: Patient Characteristics, Clinical Course, and Current Recommendations for Management. *CNS Spectr*, 15:6-11.
- Koenig A.M. y Thase M.E. (2009) First-line pharmacotherapies for depression – what is the best choice. *Pol Arch Med Wew*, 119:478–486.
- Koshikawa N., Maruyama Y. y Stephenson J.D. (1989) Production of wet-dog shakes in rats and down-regulation of spinal 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Eur J Pharmacol*, 164:595-598.
- Kraepelin E. (1913) *Psychiatrie*, eighth edition. Leipzig, Germany: Deuticke.
- Kranz G.S., Kasper S. y Lanzenberger R. (2010) Reward and the serotonergic system. *Neuroscience*, 166:1023-1035. Review.
- Kroenke K., Spitzer R.L. (2002) The PHQ-9: validity of a brief depression severity measure. *J Gen Intern Med*, 16:606-613.
- Kroenke K., Strine T.W., Spitzer R.L., Williams J.B., Berry J.T. y Mokdad A.H. (2009) The PHQ-8 as a measure of current depression in the general population. *J Affect Disord*, 114:163-173.
- Kushnir-Sukhov N.M., Gilfillan A.M., Coleman J.W., Brown J.M., Bruening S., Toth M. y Metcalfe D.D. (2006) 5-Hydroxytryptamine induces mast cell adhesion and migration. *J Immunol*, 177: 6422–6432.
- Laakso A., Pälvimäki E.P., Kuoppamäki M., Syvälahti E. y Hietala J. (1996) Chronic citalopram and fluoxetine treatments upregulate 5-HT<sub>2c</sub> receptors in the rat choroid plexus. *Neuropsychopharmacology*, 15:143-151.
- Laberge S., Cruikshank W.W. y Beer D.J. (1996) Center DM. Secretion of IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) from serotonin-stimulated CD8<sup>+</sup> T cells in vitro. *J Immunol*, 156:310-315.
- Lanzenberger R.R., Mitterhauser M., Spindelegger C., Wadsak W., Klein N., Mien L.K., Holik A., Attarbaschi T., Mossaheb N., Sacher J., Geiss-Granadia T., Kletter K., Kasper S. y

- Tauscher J. (2007) Reduced serotonin-1A receptor binding in social anxiety disorder. *Biol Psychiatry*, 61:1081-1091.
- Laviola G., Ognibene E., Romano E., Adriani W. y Keller F. (2009) Gene-environment interaction during early development in the heterozygous reeler mouse: clues for modelling of major neurobehavioral syndromes. *Neurosci Biobehav Rev*, 33:560-572.
- Lee L., Harkness K.L., Sabbagh M.A. y Jacobson J.A. (2005) Mental state decoding abilities in clinical depression. *J Affect Disord*, 86:247-258.
- Lemke M.R. (2008) Depressive symptoms in Parkinson's disease. *Eur J Neurol*, 15:21-25. Review.
- Lemke M.R., Fuchs G., Gemende I., Herting B., Oehlwein C., Reichmann H., Rieke J. y Volkmann J. (2004) Depression and Parkinson's disease. *J Neurol*, 251:VI/24-7.
- Lemke M.R., Puhl P. y Koethe N. (1999) Psychomotor retardation and anhedonia in depression. *Acta Psychiatr Scand*, 99:252-256.
- Lemonde S., Turecki G., Bakish D., Du L., Hrdina P.D. y Bown C.D. (2003) Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *J Neurosci*, 23:8788-8799.
- Leonhard K. (1961) Die Spielbreite der unsystematischen Schizophrenien, besonders der Kataphasie. *Arch Psychiat Nervenkr*, 202:513-526.
- Leonhardt S., Herrick-Davis K. y Titeler M. (1989) Detection of a novel serotonin receptor subtype (5-HT1E) in human brain: interaction with a GTP-binding protein. *J Neurochem*, 53:465-471.
- León-Ponte M., Ahern G.P. y O'Connell P.J. (2007) Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT7 receptor. *Blood*, 109:3139-3146.
- Lesch K.P. (2001) Serotonergic gene expression and depression: implications for developing novel antidepressants. *J Affect Disord*, 62:57-76. Review.
- Lesch K.P. y Gutknecht L. (2005) Pharmacogenetics of the serotonin transporter. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 29:1062-1073. Review.
- Lesch K.P., Wolozin B.L., Murphy D.L. y Reiderer P. (1993) Primary structure of the human platelet serotonin uptake site: identity with the brain serotonin transporter. *J Neurochem*, 60:2319-2322.
- Levinson D.F. (2006) The genetics of depression: a review. *Biol Psychiatry*, 60:84-92. Review.
- Levy F.O., Holtgreve-Grez H., Taskén K., Solberg R., Ried T. y Gudermann T. (1994) Assignment of the gene encoding the 5-HT1E serotonin receptor (S31) (locus HTR1E) to human chromosome 6q14-q15. *Genomics*, 22:637-640.
- Leysen J.E. (2004) 5-HT2 receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, 3:11-26. Review.

- Li Q., Muma N.A., Battaglia G. y Van de Kar L.D. Fluoxetine gradually increases [125I]DOI-labelled 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors in the hypothalamus without changing the levels of Gq- and G11-proteins. *Brain Res*, 775:225-228.
- Lima L., Mata S. y Urbina M. (2005) Allelic isoforms and decrease in serotonin transporter mRNA in lymphocytes of patients with major depression. *Neuroimmunomodulation*, 12:299-306.
- Lima L., Radtke I. y Drujan B. (1992) [3H]serotonin binding sites in goldfish retinal membranes. *Neurochem Res*, 17:991-996.
- Lima L. y Schmeer C. (1994) Characterization of serotonin transporter in goldfish retina by the binding of [3H]paroxetine and the uptake of [3H]serotonin: modulation by light. *J Neurochem*, 62:528-535.
- Lima L. y Urbina M. (2002) Serotonin transporter modulation in blood lymphocytes from patients with major depression. *Cell Mol Neurobiol*, 22:797-804.
- Lin K.M., Perlis R.H. y An Y.J. (2008) Pharmacogenomic strategy for individualizing antidepressant therapy. *Dialogues Clin Neurosci*, 10:401-408.
- Loas G. (1996) Vulnerability to depression: a model centered on anhedonia. *J Affect Disord*, 41:39-53.
- Loas G. y Pierson A. (1989) L'Anhedonie en Psychiatrie: revue. *Annals Médico-Psychologiques*, 147:705-717.
- Loo C. y Mitchell P.B. (2005) A review of the efficacy of transcranial magnetic stimulation (TMS) treatment for depression, and current and future strategies to optimize efficacy. *J Affect Disord*, 88:255-267.
- López J.J y Lorch M. (2008) Location and orientation of serotonin receptor 1a agonists in model and complex lipid membranes. *J Biol Chem*, 283:7813-7822.
- Lugli G., Krueger J.M., Davis J.M., Persico A.M., Keller F. y Smalheiser N.R. (2003) Methodological factors influencing measurement and processing of plasma reelin in humans. *BCM Biochem*, 4:9.
- Lussier A.L., Caruncho H.J. y Kalynchuk L.E. (2009) Repeated exposure to corticosterone, but not restraint, decreases the number of reelin-positive cells in the adult hippocampus. *Neurosci Lett*, 460:170-174.
- Lussier A.L., Romay-Tallón R., Kalynchuk L.E. y Caruncho H.J. (2011) Reelin as a putative vulnerability factor for depression: examining the depressogenic effects of repeated corticosterone in heterozygous reeler mice. *Neuropharmacology*, 60:1064-1074.
- McClintock S.M., Husain M.M., Greer T.L. y Cullum C.M. Association between depression severity and neurocognitive function in major depressive disorder: a review and synthesis. *Neuropsychology*, 24:9-34.

- McDonald A.J. y Mascagni F. (2007) Neuronal localization of 5-HT type 2A receptor immunoreactivity in the rat basolateral amygdala. *Neuroscience*, 146:306-30.
- McNamara I.M., Borella A.W., Bialowas L.A. y Whitaker-Azmitia P.M. (2008) Further studies in the developmental hyperserotonemia model (DHS) of autism: social, behavioral and peptide changes. *Brain Res*, 1189:203–214.
- Maes M., Yirmiya R., Norberg J., Brene S., Hibbeln J., Perini G., Kubera M., Bob P., Lerer B. y Maj M. (2009) The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab Brain Dis*, 24:27-53. Review.
- Mager S., Min C., Henry D.J., Chavkin C., Hoffman B.J., Davidson N. y Lester H.A. (1994) Conducting states of a mammalian serotonin transporter. *Neuron*, 12:845-859.
- Malison R.T., Price L.H., Berman R., van Dyck C.H., Pelton G.H., Carpenter L., Sanacora G., Owens M.J., Nemeroff C.B., Rajeevan N., Baldwin R.M., Seibyl J.P., Innis R.B. y Charney D.S. (1998) Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl) tropane and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry*, 44:1090-1098.
- Mandelli L., Serreti A., Marino E., Pirovano A., Calati R. y Colombo C. (2007) Interaction between serotonin transporter gene, catechol-O-methyl-transferase gene and stressful life events in mood disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*, 10:437-447.
- Maddock C. y Pariante C.M. (2001) How does stress affect you? An overview of stress, immunity, depression and disease. *Epidemiol Psychiatr Soc*, 10:153-162. Review.
- Maes M., Scharpe S., Meltzer H.Y., Bosmans E., Suy E. y Calabrese J. (1993) Relationships between interleukin-6 activity, acute phase proteins, and function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in severe depression. *Psychiatry Res*, 49:11-27.
- Magalhaes A.C., Holmes K.D., Dale L.B., Combs-Agrar L., Lee D., Yadav P.N., Drysdale L., Poulter M.O., Roth B.L., Pin J.P., Anisman H. y Ferguson S.S. (2010) CRF receptor 1 regulates anxiety behavior via sensitization of 5-HT<sub>2</sub> receptor signaling. *Nat Neurosci*, 13:622-629.
- Magdaleno S., Keshvara L. y Curran T. (2002) Rescue of ataxia and preplate splitting by ectopic expression of Reelin in reeler mice. *Neuron*, 33:573-586.
- Magnani F., Tate C.G., Wynne S., Williams C. y Haase J. (2004) Partitioning of the serotonin transporter into lipid microdomains modulates transport of serotonin. *J Biol Chem*, 279:38770-38778.
- Manji H.K. y Duman R.S. (2001) Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders: implications for the development of novel therapeutics. *Psychopharmacol Bull*, 35:5-49. Review.
- Manji H.K., McNamara R., Chen G. y Lenox R.H. (1999) Signalling pathways in the brain: cellular transduction of mood stabilisation in the treatment of maniac-depressive illness. *Aust NZ J Psychiatry*, 33:565-583.



- Marazziti D., Consoli G., Masala I., Catena Dell'Osso M. y Baroni S. (2010) Latest advancements on serotonin and dopamine transporters in lymphocytes. *Mini Rev Med Chem*, 10:32-40. Review.
- Marazziti D., Rossi A., Giannaccini G., Baroni S., Lucacchini A. y Cassano G.B. (1998) Presence and characterization of the serotonin transporter in human resting lymphocytes. *Neuropsychopharmacology*, 19:154-159.
- Marek G.J., Carpenter L.L., McDougle C.J. y Price L.H. (2003) Synergistic action of 5-HT<sub>2A</sub> antagonists and selective serotonin reuptake inhibitors in neuropsychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology*, 28:402-412. Review.
- Markou A. y Koob G.F. (1992) Bromocriptine reverses the elevation in intracranial self-stimulation thresholds observed in a rat model of cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology*, 7:213-224.
- Martínez-Carpio P.A., Barba J. y Bedoya-Del Campillo A. (2008) Relación de los niveles circulatorios de colesterol y los trastornos neuropsiquiátricos. *Rev Neurol*, 48:261-264.
- Martinotti G., Cloninger C.R. y Janiri L. (2008) Temperament and character inventory dimensions and anhedonia in detoxified substance-dependent subjects. *Am J Drug Alcohol Abuse*, 34:177-183.
- Martin-Soelch C., Linthicum J. y Ernst M. (2007) Appetitive conditioning: neural bases and implications for psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev*, 31:426-440.
- Mathew S. J. (2008) Treatment-resistant depression: recent developments and future directions. *Depress Anxiety*, 25:989-992. Review.
- Mathew S. J. y Charney D.S. (2009) Publication bias and the efficacy of antidepressants. *Am J Psychiatry*, 166:140-145.
- Matthews K. y Robbins T.W. (2003) Early experience as a determinant of adult behavioural responses to reward: the effects of repeated maternal separation in the rat. *Neurosci Biobehav Rev*, 27:45-55.
- Matsubara S., Arora R.C. y Meltzer H.Y. (1991) Serotonergic measures in suicide brain: 5-HT<sub>1A</sub> binding sites in frontal cortex of suicide victims. *J Neural Transm Gen Sect*, 85:181-194.
- Matsuzaki H., Minabe Y., Nakamura K., Suzuki K., Iwata Y., Sekine Y., Tsuchiya K.J., Sugihara G., Suda S., Takei N., Nakahara D., Hashimoto K., Nairn A.C., Mori N. y Sato K. (2007) Disruption of reelin signaling attenuates methamphetamine-induced hyperlocomotion. *Eur J Neurosci*, 25: 3376–3384.
- Mattson M.P., Maudsley S. y Martin B. (2004) BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci*, 26:137-146.
- Maurer-Spurej E., Pittendreigh C. y Solomons K. (2004) The influence of selective serotonin reuptake inhibitors on human platelet serotonin. *Thromb Haemost*, 91:119–128.

- Maynard S.J., Riddell J.W., Menown I.B., Allen J., Anderson J.M., Khan M.M. y Adgey A.A. (2004) Body surface potential mapping improves detection of ST segment alteration during percutaneous coronary intervention. *Int J Cardiol*, 93:203-210.
- Meehl P.E. (1962) Schizotaxia, schizotypy, schizophrenia. *Am Psychol*, 17:827-838.
- Meehl P. E. (1975) Hedonic capacity: Some conjectures. *Bull Menninger Clin*, 39: 295-307.
- Meehl P.E. (1987) Hedonic capacity ten years later: some classifications. En Clark D.C. y Fawcett J. (ed.), Anhedonia and affect deficit states. New York: Pma Publishing Corp.
- Meltzer H.Y., Li Z., Kaneda Y. y Ichikawa J. (2003) Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 27:1159-1172.
- Mendelson S.D. (2000) The current status of the platelet 5-HT(2A) receptor in depression. *J Affect Disord*, 5713-5724. Review.
- Meneses A., Terrón J.A. y Hong E. (1997) Effects of the 5-HT receptor antagonists GR127935 (5-HT1B/1D) and MDL100907 (5-HT2A) in the consolidation of learning. *Behav Brain Res*, 89:217-223.
- Merali Z., Brennan K., Brau P. y Anisman H. (2003) Dissociating anorexia and anhedonia elicited by interleukin-1beta: antidepressant and gender effects on responding for "free chow" and "earned" sucrose intake. *Psychopharmacology* (Berl), 165:413-418.
- Mercado C.P. y Kilic F. (2010) Molecular mechanisms of SERT in platelets: regulation of plasma serotonin levels. *Mol Interv*, 10:231-241. Review.
- Meyer J.H., Kapur S., Eisfeld B., Brown G.M., Houle S., DaSilva J., Wilson A.A., Rafi-Tari S., Mayberg H.S. y Kennedy S.H. (2001) The effect of paroxetine on 5-HT(2A) receptors in depression: an [(18)F]setoperone PET imaging study. *Am J Psychiatry*, 158:78-85.
- Millan M.J. (2009) Dual- and triple-acting agents for treating core and co-morbid symptoms of major depression: novel concepts, new drugs. *Neurotherapeutics*, 6:53-77. Review.
- Millan M.J., Marin P., Bockaert J. y la Cour C.M. (2008) Signaling at G-protein-coupled serotonin receptors: recent advances and future research directions. *Trends Pharmacol Sci*, 29:454-464.
- Miller A.H., Maletic V. y Raison C.L. (2009) Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*, 65:732-741. Review.
- Miller K.J. y Hoffman B.J. (1994) Adenosine A3 receptors regulate serotonin transport via nitric oxide and cGMP. *J Biol Chem*, 269:27351-27356.
- Miller G.A. (1986) Information processing deficits in anhedonia and perceptual aberration: a psychophysiological analysis. *Biol Psychiatry*, 21:100-115.

- Miyahara S., Komori T., Fujiyama R., Shizuya K., Yamamoto M. y Ohmori M. (2000) Effects of repeated stress on expression of interleukin-6 and IL-6 receptor mRNAs in rat hypothalamus and midbrain. *Life Sci*, 66:93-98.
- Montgomery S.A. y Asberg M. (1979) A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry*, 134:382-388.
- Mortensen O.V., Kristensen A.S. y Wiborg O. (2001) Species-scanning mutagenesis of the serotonin transporter reveals residues essential in selective, high-affinity recognition of antidepressants. *J Neurochem*, 79:237-247.
- Mössner R. y Lesch K.P. (1998) Role of serotonin in the immune system and in neuroimmune interactions. *Brain Behav Immun*, 12:249-271.
- Mössner R., Minoka O., Koutsilieri E., Saoud M., Ehlis A. y Müller N. (2007) Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: biological markers in depression. *World J Biol Psychiatry*, 8:141-174.
- Muller T.I., Leon A.C. y Keller M.B. (1999) Recurrence after recovery from major depressive disorder during 15 years of observational follow-up. *Am J Psychiatry*, 156:1000-1006.
- Müller H.K., Wiborg O. y Haase J. (2006) Subcellular redistribution of the serotonin transporter by secretory carrier membrane protein 2. *J Biol Chem*, 281:28901-28909.
- Mullins U.L., Gianutsos G. y Eison A.S. (1999) Effects of antidepressants on 5-HT<sub>7</sub> receptor regulation in the rat hypothalamus. *Neuropsychopharmacology*, 21:352-367.
- Murphy D.L., Uhl G.R., Holmes A., Ren-Patterson R., Hall F.Sg., Sora I., Detera-Wadleigh S. y Lesch K.P. (2003) Experimental gene interaction studies with SERT mutant mice as models for human polygenic and epistatic traits and disorders. *Genes Brain Behav*, 2:350-364. Review.
- Nakajima S., Suzuki T., Watanabe K., Kashima H. y Uchida H. (2010) Accelerating response to antidepressant treatment in depression: a review and clinical suggestions. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 34:259-264. Review.
- Nakamura K. Y Hasegawa H. (2007) Developmental role of tryptophan hydroxylase in the nervous system. *Mol Neurobiol*, 35:45-54. Review.
- National Institute for Clinical Excellence. (2004) Depression: management of depression in primary and secondary care. *Clinical Guideline*, 23. London: NICE.
- Neele E. (1949) Die phasischen psychosen nach ihrem erscheinungs- und erbbild. Leipzig: Barth.
- Nemeroff C.B., Knight D.L., Franks J., Craighead W.E. y Krishnan K.R. (1994) Further studies on platelet serotonin transporter binding in depression. *Am J Psychiatry*, 151:1623-1635.
- Nemeroff C.B. y Vale W.W. (2005) The neurobiology of depression: inroads to treatment and new drug discovery. *J Clin Psychiatry*, 66:5-13. Review.

- Nestler E.J., Barrot M., DiLeone R.J., Eisch A.J., Gold S.J. y Monteggia L.M. (2002) Neurobiology of depression. *Neuron*, 34:13-25. Review.
- Nestler E.J. y Krishnan V. (2008) The molecular neurobiology of depression. *Nature*, 455: 894-902. Review.
- Newton R.A. y Elliot J.M. (1997) Mianserin-induced down-regulation of human 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> and 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptors stably expressed in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *J Neurochem*, 69:1031-1038.
- Nibuya M., Nestler E.J. Duman R.S. (1996) Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element-binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J Neurosci*, 16:1365-1372.
- Nibuya M., Takahashi M., Russell D.S. y Duman R.S. (1999) Repeated stress increases catalytic TrkB mRNA in rat hippocampus. *Neurosci Lett*, 267:81-84.
- Nutt K., Demyttenaere Z., Janka T., Aarre M., Bourin P.L. y Canonico J.L. (2007) The other face of depression, reduced positive affect: the role of catecholamines in causation and cure. *J Psychopharmacol*, 21: 461-471.
- Nye H.E., Hope B.T., Kelz M.B., Iadarola M. y Nestler E.J. (1995) Pharmacological studies of the regulation of chronic FOS-related antigen induction by cocaine in the striatum and nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther*, 275:1671-1680.
- Norman T.R., Judd F.K. y Burrows G.D. (1992) New pharmacological approaches to the management of depression: from theory to clinical practice. *Aust N Z J Psychiatry*, 26:73-81.
- O'Connell P.J., Wang X., Leon-Ponte M., Griffiths C., Pingle S.C. y Ahern G.P. (2006) A novel form of immune signaling revealed by transmission of the inflammatory mediator serotonin between dendritic cells and T cells. *Blood*, 107:1010-1017.
- O'Connor E.A., Whitlock E.P., Beil T.L. y Gaynes B.N. (2009) Screening for depression in adult patients in primary care settings: a systematic evidence review. *Ann Intern Med*, 151:793-803. Review.
- Ogawa M., Miyata T., Nakajima K., Yagyu K., Seike M., Ikenaka K., Yamamoto H. y Mikoshiba K. (1995) The reeler gene-associated antigen on Cajal-Retzius neurons is a crucial molecule for laminar organization of cortical neurons. *Neuron*, 14:899-912.
- Ognibene E., Adriani W., Caprioli A., Ghirardi O., Ali S.F., Aloe L. y Laviola G. (2008) The effect of early maternal separation on brain derived neurotrophic factor and monoamine levels in adult heterozygous reeler mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 32:1269-1276.
- Olfson M., Marcus S.C., Druss B., Elinson L., Tanielian T. y Pincus H.A. (2002) National trends in the outpatient treatment of depression. *JAMA*, 287:203-209.
- Olivares J.M. (2001) Guía para el diagnóstico y tratamiento de los síntomas negativos de la esquizofrenia. Madrid: Gráficas Letra.

- Olivares J.M., Berrios G.E. y Bousoño M. (2005) The self-assessment anhedonia scale (SAAS). *Neurol Psychiatr Brain Res*, 3:121-132.
- Ostrowitzki S., Rao M.L., Rédei J. y Andres A.H. (1993) Concurrence of cortex and platelet serotonin<sub>2</sub> receptor binding characteristics in the individual and the putative regulation by serotonin. *J Neural Transm Gen Sect*, 93:27-35.
- Padín J.F., Rodríguez M.A., Domínguez E., Dopeso-Reyes I.G., Buceta M., Cano E., Sotelo E., Brea J., Caruncho H.J., Isabel Cadavid M., Castro M. y Isabel Loza M. (2006) Parallel regulation by olanzapine of the patterns of expression of 5-HT<sub>2A</sub> and D<sub>3</sub> receptors in rat central nervous system and blood cells. *Neuropharmacology*, 51:923-932.
- Pacholczyk T., Blakely R.D. y Amara S.G. (1991) Expression cloning of a cocaine- and antidepressant-sensitive human noradrenaline transporter. *Nature*, 350:350-354.
- Pandey G.N. (1997) Altered serotonin function in suicide. Evidence from platelet and neuroendocrine studies. *Ann N Y Acad Sc*, 836:182-200. Review.
- Pandey G.N., Dwivedi Y., Rizavi H.S., Ren X., Pandey S.C., Pesold C., Roberts R.C., Conley R.R. Y Tamminga C.A. (2002) Higher expression of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the postmortem brains of teenage suicide victims. *Am J Psychiatry*, 159:419-429.
- Pandey G.N., Pandey S.C., Janicak P.G., Marks R.C. y Davis J.M. (1990) Platelet serotonin-2 receptor binding sites in depression and suicide. *Biol Psychiatry*, 28:215-222.
- Pandey G.N., Pandey S.N., Ren X., Dwivedi Y. y Janicak P.G. (2003) Serotonin receptors in platelets of bipolar and schizoaffective patients: effect of lithium treatment. *Psychopharmacology*, 170:115-123
- Panzarino P.J. Jr. (1998) The costs of depression: direct and indirect; treatment versus nontreatment. *J Clin Psychiatry*, 59:11-14. Review.
- Papakostas G.I. (2010) The efficacy, tolerability, and safety of contemporary antidepressants. *J Clin Psychiatry*, 71 E1:e03.
- Papoucheva E., Dumuis A., Sebben M., Richter D.W. y Ponimaskin E.G. (2004) The 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor is stably palmitoylated, and acylation is critical for communication of receptor with G<sub>i</sub> protein. *J Biol Chem*, 279:3280-3291.
- Pariante C.M., Nesse R.M., Nutt D., Wolpert L. (2009) Understanding depression. A translational approach. Oxford: Oxford University Press.
- Pavón L., Sandoval-López G., Eugenia Hernández M., Loría F., Estrada I., Pérez M., Moreno J., Avila U., Leff P., Antón B. y Heinze G. (2006) Th<sub>2</sub> cytokine response in Major Depressive Disorder patients before treatment. *J Neuroimmunol*, 172:156-165.
- Paykel E.S. (2008) Basic concepts of depression. *Dialogues Clin Neurosci*, 10:279-289.
- Pelizza L. y Ferrari A. (2009) Anhedonia in schizophrenia and major depression: state or trait? *Ann Gen Psychiatry*, 8:8-22.

- Penley J., Wiebe J. y Nwosu A. (2003) Psychometric properties of the spanish Beck Depression Inventory-II in a medical sample. *Psychological Assessment*, 15:569-577.
- Penninx W., Beekman A.T. y Honig A. (2001) Depression and cardiac mortality: results from a community-based longitudinal study. *Arch Gen Psychiatry*, 58:221-227.
- Peña S., Baccichet E., Urbina M., Carreira I. y Lima T. (2005) Effect of mirtazapine treatment on serotonin transporter in blood peripheral lymphocytes of major depression patients. *Int Immunopharmacol*, 5:1069-1076.
- Peroutka S.J. y Snyder S.H. (1980) Long-term antidepressant treatment decreases spiroperidol-labeled serotonin receptor binding. *Science*, 210:88-90.
- Perris C. (1966): A study of bipolar (manic-depressive) and unipolar recurrent depressive psychosis. *Acta Psychiat Scand*, 19.
- Persico A.M., D'agruma L., Maiorano N., Totaro A., Militerni R., Bravaccio C., Wassink T.H., Schneider C., Melmed R., Trillo S., Montecchi F., Palermo M., Pascucci T., Puglisi-Allegra S., Reichelt K.L., Conciatori M., Marino R., Quattrocchi C.C., Baldi A., Zelante L., Gasparini P. y Keller F. (2001) Reelin gene alleles and haplotypes as a factor predisposing to autistic disorder. *Mol Psychiatry*, 6:150-159.
- Perry K.W., Bymaster F.P., Zhang W., Carter P.A., Shaw J., Chernet E., Phebus L. y Wong D.T. (2002) Fluoxetine, but not other selective serotonin uptake inhibitors, increases norepinephrine and dopamine extracellular levels in prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)*, 160:353-361.
- Pichot P. (1995) The birth of the bipolar disorder. *Eur Psychiatry*, 10:1-10.
- Pigott H.E., Leventhal A.M., Alter G.S. y Boren J.J. (2010) Efficacy and effectiveness of antidepressants: current status of research. *Psychother Psychosom*, 79:267-279.
- Pincus H.A. y Pettit A.R. (2001) The societal costs of chronic major depression. *J Clin Psychiatry*, 62:5-9. Review.
- Piñeyro G. y Blier P. (1996) Regulation of 5-hydroxytryptamine release from rat midbrain raphe nuclei by 5-hydroxytryptamine1D receptors: effect of tetrodotoxin, G protein inactivation and long-term antidepressant administration. *J Pharmacol Exp Ther*, 276:697-707.
- Podhorna J. y Didriksen M. (2004) The heterozygous reeler mouse: behavioural phenotype. *Behav Brain Res*, 153:43-54.
- Post R.M. y Calabrese J.R. (2004) Bipolar depression: the role of atypical antipsychotics. *Expert Rev Neurother*, 4:S27-33.
- Pridmore S. (1999) Rapid transcranial magnetic stimulation and normalization of the dexamethasone suppression test. *Psychiatry Clin Neurosci*, 53:33-37.
- Price J., Cole V. y Goodwin G.M. (2009) Emotional side-effects of selective serotonin reuptake inhibitors. *Br J Psychiatry*, 195:211-217.

- Pucadyil T. J., y Chattopadhyay A. (2004) Cholesterol modulates ligand binding and G-protein coupling to serotonin(1A) receptors from bovine hippocampus. *Biochim Biophys Acta*, 1663:188-200.
- Purselle D.C. y Nemeroff C.B. (2003) Serotonin transporter: a potential substrate in the biology of suicide. *Neuropsychopharmacology*, 28:613-619.
- Qian Y., Galli A., Ramamoorthy., Risso S., DeFelice L.J. y Blakely R.D. (1997) Protein kinase C activation regulates human serotonin transporters in HEK-293 cells via altered cell surface expression. *J Neurosci*, 17:45-57.
- Quattrocchi C.C., Huang C., Niu S., Sheldon M., Benhayon D., Cartwright J. Jr., Mosier D.R., Keller F. y D'Arcangelo G. (2003) Reelin promotes peripheral synapse elimination and maturation. *Science*, 301:649-653.
- Quattrocchi C.C., Wannenes F., Persico A.M., Ciafré S.A., D'Arcangelo G., Farace M.G. y Keller F. (2002) Reelin is a serine protease of the extracellular matrix. *J Biol Chem*, 277:303-309.
- Quintana J. (1992) Platelet serotonin and plasma tryptophan decreases in endogenous depression. Clinical, therapeutic, and biological correlations. *J Affect Disord*, 24:55-62.
- Rado S. (1956) Psychoanalysis of behaviour: collected papers. New York: Grune and Stratton.
- Rafter D. (2001) Biochemical markers of anxiety and depression. *Psychiatry Res*, 103:93-96.
- Ramamoorthy S., Bauman A.L., Moore K.R., Han H., Yang-Feng T., Chang A.S., Ganapathy V. y Blakely R.D. (1993a) Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90:2542-2546.
- Ramamoorthy S. y Blakely R.D. (1999) Phosphorylation and sequestration of serotonin transporters differentially modulated by psychostimulants. *Science*, 285:763-766.
- Ramamoorthy S., Cool D.R. y Mahesh V.B. (1993b) Regulation of the human serotonin transporter. Cholera toxin-induced stimulation of serotonin uptake in human placental choriocarcinoma cells is accompanied by increased serotonin transporter mRNA levels and serotonin transporterspecific ligand binding. *J Biol Chem*, 268:21626-21631.
- Ramos-Brieva J.C. (1986) Validación de la versión castellana de la escala de Hamilton para la depresión. *Actas Luso-Esp Neurol Psiquiatr*, 14:324-334.
- Reith M.E., Li M.Y. y Yan Q.S. (1997) Extracellular dopamine, norepinephrine, and serotonin in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of freely moving rats during intracerebral dialysis following systemic administration of cocaine and other uptake blockers. *Psychopharmacology (Berl)*, 134:309-317.
- Ringstedt T., Linnarsson S., Wagner J., Lendahl U., Kokaia Z. y Arenas E. (1998) BDNF regulates reelin expression and Cajal- Retzius cell development in the cerebral cortex. *Neuron*, 21:305-315.

- Rivera-Baltanás T. y Caruncho H.J. (2010a) Biomarcadores de la depresión. *Rev Neurol*, 50:470-476.
- Rivera-Baltanás T., Romay-Tallón R., Dopeso-Reyes I.G. y Caruncho H.J. (2010b) Serotonin transporter clustering in blood lymphocytes of reeler mice. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*, 1:1-7.
- Robins L.N., Helzer J.E., Croughan, J. y Ratcliff K. S. (1981) National Institute of Mental Health Diagnostic Interview Schedule: Its history, characteristics, and validity. *Arch Gen Psychiatry*, 38:381-389.
- Robins L.N., Locke B.Z. y Regier D.A. (1991) An overview of psychiatric disorders in America. En Robins L.N. y Regier D.A. (ed.) *Psychiatric Disorders in America: The Epidemiological Catchment Area Study*. New York.
- Robins L.N., Wing J., Ulrich W.H., Helzer J.E., Babor T.F., Burke J., Farmer A., Jablenski A., Pickens R., Regier, D.A. y Towle, L.H. (1988) The Composite International Diagnostic Interview An Epidemiologic Instrument Suitable for Use in Conjunction With Different Diagnostic Systems and in Different Cultures. *Arch Gen Psychiatr*, 45:1069-1077.
- Rogers J.T. y Weeber E.J. (2008) Reelin and apoE actions on signal transduction, synaptic function and memory formation. *Neuron Glia Biol*, 4:259-270. Review.
- Romay-Tallón R., Dopeso-Reyes I.G., Lussier A.L., Kalynchuk L.E. y Caruncho H.J. (2010) The coexpression of reelin and neuronal nitric oxide synthase in a subpopulation of dentate gyrus neurons is downregulated in heterozygous reeler mice. *Neural Plast*, 130429.
- Rosel P., Arranz B., Urretavizcaya M., Oros M., San L. y Navarro M.A. (2004) Altered 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>4</sub> postsynaptic receptors and their intracellular signalling systems IP<sub>3</sub> and cAMP in brains from depressed violent suicide victims. *Neuropsychobiology*, 49:189-195.
- Ross B.M., Ward P. y Glen I. (2004) Delayed vasodilatory response to methylnicotinate in patients with unipolar depressive disorder. *J Affect Disord*, 82:285-290.
- Roth B.L., Berry S.A., Kroeze W.K., Willins D.L. y Kristiansen K. (1998) Serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors: molecular biology and mechanisms of regulation. *Crit Rev Neurobiol*, 12:319-338. Review.
- Roy A., Pickar D., Paul S., Doran A., Chrousos G.P. y Gold P.W. (1987) CSF corticotropin-releasing hormone in depressed patients and normal control subjects. *Am J Psychiatry*, 144:641-645.
- Rudnick G. (1977) Active transport of 5-hydroxytryptamine by plasma membrane vesicles isolated from human blood platelets. *J Biol Chem*, 252:2170-2174.
- Rudnick G. (2006) Serotonin transporters--structure and function. *J Membr Biol*, 213:101-110. Review.
- Ruscio J. y Ruscio A.M. (2000) Informing the continuity controversy: a taxometric analysis of depression. *J Abnormal Psychol*, 109:473-487.



- Ruscio J. y Ruscio A.M. (2008) Categories and Dimensions Advancing Psychological Science Through the Study of Latent Structure. *Curr Dir Psychol Sci*, 17:203-207.
- Rush A.J., Fava M., Wisniewski S.R., Lavori P.W., Trivedi M.H., Sackeim H.A., Thase M.E., Nierenberg A.A., Quitkin F.M., Kashner T.M., Kupfer D.J., Rosenbaum J.F., Alpert J., Stewart J.W., McGrath P.J., Biggs M.M., Shores-Wilson K., Lebowitz B.D., Ritz L., Niederehe G; STAR\*D Investigators Group (2004) Sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR\*D): rationale and design. *Control Clin Trials*, 25:119-142.
- Rush A.J., Trivedi H.M., Hicham M. Ibrahim H.M., Carmody T.J., Arnow B., Daniel N. Klein D.N., Markowitz J.C., Ninan P.T., Susan Kornstein S., Rachel Manber R., Thase M.E., Kocsis J.H. y Keller M.B. (2003) The 16-Item quick inventory of depressive symptomatology (QIDS), clinician rating (QIDS-C), and self-report (QIDS-SR): a psychometric evaluation in patients with chronic major depression. *Biol Psychiatry*, 24:573-583.
- Rush A.J., Trivedi M.H., Wisniewski S.R., Nierenberg A.A., Stewart J.W., Warden D., Niederehe G., Thase M.E., Lavori P.W., Lebowitz B.D., McGrath P.J., Rosenbaum J.F., Sackeim H.A., Kupfer D.J., Luther J. y Fava M. (2006) Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR\*D report. *Am J Psychiatry*, 163:1905-1917.
- Sakai N., Sasaki K., Nakashita M., Honda S., Ikegaki N. y Saito N. (1997) Modulation of serotonin transporter activity by a protein kinase C activator and an inhibitor of type 1 and 2A serine/threonine phosphatases. *J Neurochem*, 68:2618-2624.
- Samama B. y Boehm N. (2005) Reelin immunoreactivity in lymphatics and liver during development and adult life. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 285:595-599.
- Sanders-Bush E., Breeding M., Knoth K. y Tsutsumi M. (1989) Sertraline-induced desensitization of the serotonin 5HT-2 receptor transmembrane signaling system. *Psychopharmacology (Berl)*, 99:64-69.
- Sanders-Bush E., Breeding M., Knoth K. y Roznoski M. (1987) 5HT2 binding sites after mianserin: comparison of loss of sites and brain levels of drug. *Eur J Pharmacol*, 133:199-204.
- Sandhu S.K., Ross L.S. y Gill S.S. (2002) A cocaine insensitive chimeric insect serotonin transporter reveals domains critical for cocaine interaction. *Eur J Biochem*, 269:3934-3944.
- Scanlon S.M., Williams D.C. y Schloss P. (2001) Membrane cholesterol modulates serotonin transporter activity. *Biochemistry*, 40:10507-10513.
- Schlosser A. y Kasper S. (2009) The role of pharmacogenetics in the treatment of depression and anxiety disorders. *Int Clin Psychopharmacol*, 24:277-288.
- Schmid J.A., Just H. y Sitte H.H. (2001) Impact of oligomerization on the function of the human serotonin transporter. *Biochem Soc Trans*, 29:732-736.

## Bibliografía

- Schroeter S., Levey A.I. y Blakely R.D. (1997) Polarized expression of the antidepressant-sensitive serotonin transporter in epinephrine-synthesizing chromaffin cells of the rat adrenal gland. *Mol Cell Neurosci*, 9:170-184.
- Seeger G., Schloss P. y Schmidt M.H. (2001) Functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene is associated with severe hyperkinetic disorders. *Mol Psychiatry*, 6:235-238.
- Serafeim A, y Gordon J. (2001) The immune system gets nervous *Curr Opin Pharmacol*, 1:398-403. Review.
- Serafeim A., Holder M.J., Grafton G., Chamba A., Drayson M.T., Luong Q.T., Bunce C.M., Gregory C.D., Barnes N.M. y Gordon J. (2003) Selective serotonin reuptake inhibitors directly signal for apoptosis in biopsy-like Burkitt lymphoma cells. *Blood*, 101:3212-3219.
- Serretti A., Artioli P. y De Ronchi D. (2004) The 5-HT<sub>2C</sub> receptor as a target for mood disorders. *Expert Opin Ther Targets*, 8:15-23. Review.
- Sheline Y.I., Barch D.M., Donnelly J.M., Olliger J.M., Snyder A.Z. y Mintun M.A. (2001) Increased amygdala response to masked emotional faces in depressed subjects resolves with antidepressant treatment: an fMRI study. *Biol Psychiatry*, 50:651-658.
- Shelton R. (2006) Management of major depressive disorders following failure of antidepressant treatment. *Primary Psychiatry*, 12:73-82.
- Shelton R.C., Sanders-Bush E., Manier D.H. y Lewis D.A. (2009) Elevated 5-HT<sub>2A</sub> receptors in postmortem prefrontal cortex in major depression is associated with reduced activity of protein kinase A. *Neuroscience*, 158:1406-1415.
- Shelton R.C. y Stahl S.M. (2004) Risperidone and paroxetine given singly and in combination for bipolar depression. *J Clin Psychiatry*, 65:1715-1719.
- Shelton R.C., Tollefson G.D., Tohen M., Stahl S., Gannon K.S., Jacobs T.G., Buras W.R., Bymaster F.P., Zhang W., Spencer K.A., Feldman P.D. y Meltzer H.Y. (2001) A novel augmentation strategy for treating resistant major depression. *Am J Psychiatry*, 158:131-134.
- Shiah I.S. y Yatham L.N. (1998) GABA function in mood disorders: an update and critical review. *Life Sci*, 63: 1280-1303.
- Shimada S., Kitayama S., Lin C.L., Patel A., Nanthakumar E., Gregor P., Kuhar M. y Uhl G. (1991) Cloning and expresión of a cocaine-sensitive dopamine transporter complementary DNA. *Science*, 254:576-578.
- Shimizu E., Hashimoto K., Okamura N., Koike K., Komatsu N. y Kumakiri C. (2003) Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressant. *Biol Psychiatry*, 54:70-75.
- Sibille E., Sarnyai Z., Benjamin D., Gal J., Baker H. y Toth M. (1997) Antisense inhibition of 5-hydroxytryptamine<sub>2a</sub> receptor induces an antidepressant-like effect in mice. *Mol Pharmacol*, 52:1056-1063.

- Silverman D.H., Wu H. Y. y Karnovsky M.L. (1985) Muramyl peptides and serotonin interact at specific binding sites on macrophages and enhance superoxide release. *Biochem Biophys Res Commun.* 131:1160-1167.
- Simon G.E. (2000) Long-term prognosis of depression in primary care. *Bull World Health Organ*, 78:439-445.
- Simons R.F. (1982) Physical anhedonia and future psychopathology: an electrocortical continuity? *Psychophysiology.* 19:433-441.
- Singh V.P., Patil C.S., Jain N.K., Singh A. y Kulkarni S.K. (2003) Paradoxical effects of opioid antagonist naloxone on SSRI-induced analgesia and tolerance in mice. *Pharmacology*, 69:115-122.
- Sluzewska A., Sobieska M. y Rybakowski J.K. (1997) Changes in acute-phase proteins during lithium potentiation of antidepressants in refractory depression. *Neuropsychobiology*, 35:123-127.
- Smalheiser N.R., Costa E. y Guidotti A. (2000) Expression of reelin in adult mammalian blood, liver, pituitary pars intermedia, and adrenal chromaffin cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97:1281-1286.
- Smeraldi E., Rizzo F. y Crespi G (1998). (1998) Double-blind, randomized study of venlafaxine, clomipramine, and trazodone in geriatric patients with major depression. *Primary Care Psychiatry*, 4: 189-195.
- Smeraldi E., Serretti A., Artioli P., Lorenzi C. y Catalano M. (2006) Serotonin transporter gene-linked polymorphic region: possible pharmacogenetic implications of rare variants. *Psychiatr Genet*, 16:153-8.
- Sneddon J.M. (1973) Blood platelets as a model for monoamine-containing neurones. *Prog Neurobiol*, 1:151-198. Review.
- Sonawalla S.B. y Fava M. (2001) Severe depression: is there a best approach? *CNS Drugs*, 15:765-776.
- Sora I., Wichems C., Takahashi N., Li X.F., Zeng Z., Revay R., Lesch K.P., Murphy D.L. y Uhl G.R. (1998) Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95:7699-7704.
- Snyder S.H. y Peroutka S.J. (1982) A possible role of serotonin receptors in antidepressant drug action. *Pharmacopsychiatry*, 15:131-134.
- Spitzer R., Kroenke K. y Williams J. (1999) Validation and utility of a self-report version of PRIME-MD: the PHQ Primary Care Study. *JAMA*, 282:1737-1744.
- Sporn J., Belanoff J.K., Schatberg A. y Charney D.S. (2004) Pharmacotherapy of depression. En *Neurobiology of mental illness*. Oxford: Oxford University Press.

- Staner L. (2010) Comorbidity of insomnia and depression. *Sleep Med Rev*, 14:35-46.
- Stahl S.M., Entsuah R. y Rudolph R.L. (2002) Comparative efficacy between venlafaxine and SSRIs: a pooled analysis of patients with depression. *Biol Psychiatry*, 52:1166-1174.
- Stahl S. M., Grady M.M, Moret C. y Briley M. (2005) SNRIs: Their Pharmacology, Clinical Efficacy, and Tolerability in Comparison with Other Classes of Antidepressants. *CNS Spectr*, 10:732-747.
- Stanley M., y Mann J.J.. (1983) Increased serotonin-2 binding sites in frontal cortex of suicide victims. *Lancet*, 1:214-216.
- Stanley M., Virgilio J. y Gershon S. (1982) Tritiated imipramine binding sites are decreased in the frontal cortex of suicides. *Science*, 216:1337-1339.
- Stefulj J., Jernej B., Cicin-Sain L., Rinner I. y Schauenstein K. (2000) mRNA expression of serotonin receptors in cells of the immune tissues of the rat. *Brain Behav Immun*. 14:219-224.
- Sternberg E.M., Trial J.y Parker C.W. (1986) Effect of serotonin on murine macrophages: suppression of Ia expression by serotonin and its reversal by 5-HT<sub>2</sub> serotonergic receptor antagonists. *J Immunol*, 137:276-282.
- Sternner E.Y. y Kalynchuk L.E. (2010) Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: relevance to depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 34:777-790. Review.
- Stockmeier C.A. (2003) Involvement of serotonin in depression: evidence from postmortem and imaging of serotonin receptors and the serotonin transporter. *J Psychiatry Res*, 37:357-363.
- Stolz J.F. y Marsden C.A. (1983) Effect of chronic antidepressant treatment and subsequent withdrawal on [3H]-5-hydroxytryptamine and [3H]-spiperone binding in rat frontal cortex and serotonin receptor mediated behaviour. *Psychopharmacology*, 80:150-155.
- Stolz J.F., Marsden C.A. y Middlemiss D.N. (1983) Effect of chronic antidepressant treatment and subsequent withdrawal on [3H]-5-hydroxytryptamine and [3H]-spiperone binding in rat frontal cortex and serotonin receptor mediated behaviour. *Psychopharmacology (Berl)*, 80:150-155.
- Strasser V., Fasching D., Hauser C., Mayer H., Bock H.H., Hiesberger T., Herz J., Weeber E.J., Sweatt J.D., Pramatarova A., Howell B., Schneider W.J. y Nimpf J. (2004) Receptor clustering is involved in Reelin signaling. *Mol Cell Biol*, 24:1378-1386.
- Sullivan P.F., Fan C. y Perou C.M. (2006) Evaluating the comparability of gene expression in blood and brain. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 141:261-268.
- Sullivan G.M., Oquendo M.A., Simpson N., Van Heertum R.L., John Mann J. y Parsey R.V. (2005) Brain serotonin(1A) receptor binding in major depression is related to psychic and somatic anxiety. *Biol Psychiatry*, 58:947-954.

- Szabo S.T. y Blier P. (2002) Effects of serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) reuptake inhibition plus 5-HT(2A) receptor antagonism on the firing activity of norepinephrine neurons. *J Pharmacol Exp Ther*, 302:983-991.
- Tao-Cheng J.H. y Zhou F.C. (1999) Differential polarization of serotonin transporters in axons versus soma-dendrites: an immunogold electron microscopy study. *Neuroscience*, 94:821-830.
- Tate C.G. y Blakely R.D. (1994) The effect of N-linked glycosylation on activity of the Na(+)- and Cl(-)-dependent serotonin transporter expressed using recombinant baculovirus in insect cells. *J Biol Chem*, 269:26303-26310.
- Taylor D.P., Carter R.B., Eison A.S., Mullins U.L., Smith H.L., Torrente J.R., Wright R.N. y Yocca F.D. (1995) Pharmacology and neurochemistry of nefazodone, a novel antidepressant drug. *J Clin Psychiatry*, 56:3-11. Review.
- Thase M.E., Entsuah A.R. y Rudolph R.L. (2001) Remission rates during treatment with venlafaxine or selective serotonin reuptake inhibitors. *Br J Psychiatry*, 178:234-241.
- Tiihonen J., Kuikka J.T., Bergström K.A., Karhu J., Viinamäki H., Lehtonen J., Hallikainen T., Yang J. y Hakola P. (1997) Single-photon emission tomography imaging of monoamine transporters in impulsive violent behaviour. *Eur J Nucl Med*, 24:1253-12560.
- Tissir F. y Goffinet A.M. (2003) Reelin and brain development. *Nat Rev Neurosci*, 4:496-505. Review.
- Tohyama M., Inagaki N., Yamatodani A., Ando-Yamamoto M., Watanabe T. y Wada H. (1988) Organization of histaminergic fibers in the rat brain. *J Comp Neurol*, 273:283-300.
- Toth M., y Shenk T. (1994) Antagonist-mediated down-regulation of 5-hydroxytryptamine type 2 receptor gene expression: modulation of transcription. *Mol Pharmacol*, 45:1095-1100.
- Trivedi M.H. (2009) Treating depression to full remission. *J Clin Psychiatry*, 70:e01.
- Tseng C.P., Cheng J.C., Tseng W.L., Huang C.L., Chong K.Y., Liao C.H. y Stern A. (2009) Reelin is a platelet protein and functions as a positive regulator of platelet spreading on fibrinogen. *Cell Mol Life Sci*, 67:641-653.
- Tsuno N. y Homma A. (2009) What is the association between depression and Alzheimer's disease? *Expert Rev Neurother*, 9:1667-1676.
- Tueting P., Costa E. y Dwivedi Y. (1999) The phenotypic characteristics of heterozygous reeler mouse. *Neuroreport*, 10:1329-1334.
- Tueting P., Doueiri M.S., Guidotti A., Davis J.M. y Costa E. (2006) Reelin down-regulation in mice and psychosis endophenotypes. *Neurosci Biobehav Rev*, 30:1065-1077. Review.
- Turner E.H., Matthews A.M., Linardatos E., Tell R.A. y Rosenthal R. (2008) Selective publication of antidepressant trials and its influence on apparent efficacy. *N Engl J Med*, 358:252-260.

## Bibliografía

- Turner J.H., y Raymond J.R. (2005) Interaction of calmodulin with the serotonin 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> receptor. A putative regulator of G protein coupling and receptor phosphorylation by protein kinase C. *J Biol Chem*, 280:30741-30750.
- Twarog B.M. y Page I.H. (1953) Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am J Physiol*, 175:157-161.
- U.S. Department of Health and Human Services. (1999) Mental Health: A Report of the Surgeon General. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Service, Substance Abuse and Mental Health Services Administration, Center of Mental Health Services, National Institutes of Health, National Institutes of Mental Health.
- Urbina M., Pineda S., Piñango L., Carreira I. y Lima L. (1999) [3H] Paroxetine binding to human peripheral lymphocyte membranes of patients with major depression before and after treatment with fluoxetine. *Int J Immunopharmacol*, 21:631-646.
- Usdin T.B., Mezey E., Chen C., Brownstein M.J. y Hoffman B.J. (1991) Cloning of the cocaine-sensitive bovine dopamine transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88:11168-11171.
- Vaidya V.A., Marek G.J., Aghajanian G.K. y Duman R.S. (1997) 5-HT<sub>2A</sub> receptor-mediated regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the hippocampus and the neocortex. *J Neurosci*, 17:2785-2795.
- Van Loveren H., Den Otter W., Meade R., Terheggen P.M. y Askenase P.W. (1985) A role for mast cells and the vasoactive amine serotonin in T cell-dependent immunity to tumors. *J Immunol*, 134:1292-1299.
- Van Oekelen D., Jurzak M., Van de Wiel D., Van Hecke G., Luyten WHML. y Leysen J.E. (2001) Different regulation of rat 5-HT<sub>2A</sub> and rat 5-HT<sub>2C</sub> receptors in NIH 3T3 cells upon exposure to 5-HT and pipamperone. *Eur J Pharm*, 425:21-32.
- Van Oekelen D., Luyten W.H. y Lysen J.E. (2003) 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors and their atypical regulation properties. *Life Sci*, 72: 2429-2449.
- Van Pragg H. M., Asnis G.M., Kahn R.S., Brown S.L., Korn M. y Harvay-Friedman J.M. (1990) Monoamines and abnormal behaviour. A multi-aminergic perspective. *Br J Psychiatry*, 157:723-734.
- Van Pragg H. M., Uleman A.M, y Spitz J.C. (1965) The vital syndrome interview. A structured standard interview for the recognition and registration of the vital depressive symptom complex. *Psychiatr Neurol Neurochir*, 68:329-346.
- Vieyra-Reyes P., Venebra-Muñoz A., Rivas- Santiago B. y García-García F. (2009) Acción de la nicotina como antidepresivo regulador del sueño en sujetos deprimidos. *Rev Neurol*, 49:661-667.
- Wade P.R., Chen J., Jaffe B., Kassem I.S., Blakely R.D. y Gershon M.D. (1996) Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointestinal tract. *J Neurosci*, 16:2352-2364.

- Walker L.G., Heys S.D. y Walker M.B. (1999) Psychological factors can predict the response to primary chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer. *Eur J Cancer*, 35:1783-1788.
- Wang J. y Dunn A.J. (1999) The role of interleukin-6 in the activation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis and brain indolamines by endotoxin and interleukin-1 beta. *Brain Res*, 815:337-348.
- Warden D, Rush AJ, Trivedi MH, Fava M, Wisniewski SR. (2007) The STAR\*D Project results: a comprehensive review of findings. *Curr Psychiatry Rep*, 9:449-459.
- Weissman M.M., Bland R.C., Canino G.J., Faravelli C., Greenwald S., Hwu H.G., Joyce P.R., Karam E.G., Lee C.K., Lellouch J., Lépine J.P., Newman S.C., Rubio-Stipec M., Wells J.E., Wickramaratne P.J., Wittchen H. y Yeh E.K. (1996) Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA*, 276:293-299.
- Whale R., Terao T., Cowen., Freemantle N. y Gedde J. (2010) Pindolol augmentation of serotonin reuptake inhibitors for the treatment of depressive disorder: a systematic review. *J Psychopharmacol*, 24:513-520
- Whitaker-Azmitia P.M. (2005) Behavioral and cellular consequences of increasing serotonergic activity during brain development: a role in autism? *International Journal of Developmental Neuroscience*, 23:75-83.
- White K.J., Walline C.C. y Barker E.L. (2005) Serotonin transporters: implications for antidepressant drug. *Development*, 7:421-33.
- Willner P. (2005) Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52:90-110. Review.
- Willins, D.L., Alsayegh L., Berry S.A., Backstrom J.R., Sanders-Bush E., Friedman L., Khan N. y Roth, B.L. (1998) Serotonergic antagonist effects on trafficking of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors in vitro and in vivo. *Ann N Y Acad Sci*, 861:121-127.
- Willins D.L., Berry S.A., Alsayegh L., Backstrom J.R., Sanders-Bush E., Friedman L. y Roth B. L. (1999) Clozapine and other 5-hydroxytryptamine-2A receptor antagonists alter the subcellular distribution of 5-hydroxytryptamine-2A receptors in vitro and in vivo. *Neuroscience*, 91:599-606.
- Wihlbäck A.C., Sundström-Poromaa I., Allard P., Mjörndal T., Spigset O. y Bäckström T. (2001) Influence of postmenopausal hormone replacement therapy on platelet serotonin uptake site and serotonin 2A receptor binding. *Obstet Gynecol*, 98:450-457.
- Winokur G., Reich T. y Clayton P.J. (1969) Family history studies: V. The genetics of mania. *Am J Psychiatry*, 125:1358-1369.
- Xia Z., Gray J. A., Compton-Toth B.A. y Roth B.L. (2003) A direct interaction of PSD-95 with 5-HT<sub>2A</sub> serotonin receptors regulates receptor trafficking and signal transduction. *J Biol Chem*, 278:21901-21908.

## Bibliografía

- Xu T. y Pandey S.C. (2000) Cellular localization of serotonin(2A) (5HT(2A)) receptors in the rat brain. *Brain Res Bull*, 51:499-505.
- Yadav P.N., Kroeze W.K., Farrell M.S. y Roth B.L. (2011) Antagonist functional selectivity: 5-HT<sub>2A</sub> serotonin receptor antagonists differentially regulate 5-HT<sub>2A</sub> receptor protein level in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*, 339:99-105.
- Yamauchi M., Miyara T., Matsushima T. y Imanishi T. (2006) Desensitization of 5-HT<sub>2A</sub> receptor function by chronic administration of selective serotonin reuptake inhibitors. *Brain Res*, 1067:164-169.
- Yin J., Albert R.H., Tretiakova A.P. y Jameson B.A. (2006) 5-HT(1B) receptors play a prominent role in the proliferation of T-lymphocytes. *J Neuroimmunol*. 181:68-81.
- Young M.R., Kut J.L., Coogan M.P., Wright M.A., Young M. E., y Matthews J. (1993) Stimulation of splenic T-lymphocyte function by endogenous serotonin and by low-dose exogenous serotonin. *Immunology*, 80:395-400.
- Zacharko R.M., Anisman H. y Zalcman S. (1993) The impact of stressors on immune and central neurotransmitter activity: bidirectional communication. *Rev Neurosci*, 4:147-180. Review.
- Zeugmann S., Quante A., Heuser I., Schwarzer R. y Anghelescu I. (2010) Inflammatory biomarkers in 70 depressed inpatients with and without the metabolic syndrome. *J Clin Psychiatry*, 71:1007-1016.
- Zhang X., Beaulieu J.M., Sotnikova T.D., Gainetdinov R.R. Y Caron M.G. (2004) Tryptophan hydroxylase-2 controls brain serotonin synthesis. *Science*, 305:217.
- Zhang H.T., Huang Y., Jin S.L., Frith S.A., Suvarna N., Conti M. y O'Donnell J.M. (2002) Antidepressant-like profile and reduced sensitivity to rolipram in mice deficient in the PDE4D phosphodiesterase enzyme. *Neuropsychopharmacology*, 27:587-595.
- Zhu C.B., Hewlett W.A., Feoktistov I., Biaggioni I. Blakely R.D. (2004) Adenosine receptor, protein kinase G, and p38 mitogen-activated protein kinase-dependent up-regulation of serotonin transporters involves both transporter trafficking and activation. *Mol Pharmacol*, 65:1462-1474.
- Zimmerman M.P., Posternak M.A. y Chelminski I. (2005) Is the cutoff to define remission on the Hamilton Rating Scale for Depression too high? *J Nerv Ment Dis*, 193:170175.



# **Abreviaturas**



## Abreviaturas

Para una mayor claridad se incluyen entre paréntesis el significado en lengua inglesa de las abreviaturas más comúnmente utilizadas en este texto.

**AC:** Adenilato ciclasa (*Adenylate cyclase, CA*)

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic Acid, DNA*)

**ADNc:** Ácido desoxirribonucleico complementario (*Complementary deoxyribonucleic acid, cDNA*)

**AGREE:** Instrumento de Valoración de Directrices para la Investigación y Evaluación (*Appraisal of Guidelines for Reserch & Evaluation Instrument*)

**AMPc:** Adenosín monofosfato cíclico (*Adenosine monophosphate cyclic, cAMP*)

**APA:** Asociación Americana de Psiquiatría (*American Psychiatric Association*)

**ARNc:** Ácido ribonucleico complementario (*Complementary ribonucleic acid, cRNA*)

**ASIR:** Antagonistas 5-HT<sub>2A</sub> e inhibidores de la recaptación de serotonina (*Serotonin antagonist and reuptake inhibitor, SARI*)

**ATC:** Antidepresivos tricíclicos (*Tricyclic antidepressant, TCA*)

**BDI:** Inventario de Depresión de Beck (*Beck Depression Inventory*)

**BDNF:** Factor neurotrófico derivado del cerebro (*Brain-derived neurotrophic factor*)

**Bmax:** Capacidad máxima de unión del receptor

**BRFSS:** Sistema de Vigilancia de los Factores de Riesgo Conductuales (*Behavioral Risk Factor Surveillance System*)

**CaMK:** Cinasa dependiente de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina (*Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase*)

**CDs:** Células dendríticas (*Dendritic cells, DCs*)

**CIDI:** Entrevista Diagnóstica Compuesta Internacional (*Composite International Diagnostic Interview*)

**CIE:** Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas de salud

**CPA:** Células presentadoras de antígeno (*Antigen presenting cell, APC*)

**COMT:** Catecol-o-metiltransferasa (*Catechol-O-methyltransferase*)

**CREB:** Proteína de unión al elemento de respuesta AMPc (*cAMP response element-binding*)

**CRH:** Hormona Liberadora de Corticotropinas (*Corticotropin-releasing hormone*)

**CRF1:** Receptor del Factor Liberador de Corticotropinas (*Corticotropin releasing factor receptor 1*)

**DA:** Dopamina (*Dopamine*)

**DAB-1:** Gen de la proteína adaptadora Diseable-1

**DAG:** Diaglicerol (*Diacylglycerol*)

**DAT:** Transportador de dopamina (*Dopamine transporter*)

**DDC:** L-aminoácido aromático descarboxilasa (*Aromatic L-amino acid decarboxylase*)

**DIS:** Entrevista Diagnóstica Programada (*Diagnostic Interview Schedule*)

- DSM:** Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*)
- EA:** Enfermedad de Alzheimer (*Alzheimer's disease, AD*)
- EAA:** Escala de Autoevaluación de la Anhedonia
- ECA:** Áreas de Estudio Epidemiológico (*Epidemiologic Catchment Area*)
- ECP:** Estimulación Craneal Profunda (*Deep brain stimulation, DBS*)
- EGL:** Lamina granular externa (*External granular layer*)
- EGF:** Factor de crecimiento epidérmico (*Epidermal growth factor*)
- EMT:** Estimulación magnética transcraneal (*Transcranial magnetic stimulation, TMS*)
- ESM:** Error estándar de la media (*standard error of the median, SEM*)
- FDA:** Agencia de Drogas y Alimentación (*Food and Drug Administration*)
- GABA:** Ácido gamma-aminobutírico (*Gamma-aminobutyric acid*)
- GMPC:** Guanosín monofosfato cíclico (*Guanosine monophosphate cyclic*)
- GPCR:** Receptores acoplados a proteína G (*G protein-coupled receptors*)
- GR:** Receptor de glucocorticoides (*Glucocorticoid receptor*)
- GRKs:** Cinasas de receptores acoplados a proteínas G (*G protein-coupled receptor kinases*)
- GSK-3:** Glicógeno sintasa cinasa-3 (*Glycogen synthase kinase 3*)
- HEK:** Células embrionarias humanas de riñón (*Human Embryonic Kidney cells*)
- HPA:** Eje hipotalámico- pituitario-adrenal (*hypothalamic-pituitary-adrenal axis*)
- HDRS:** Escala para la evaluación de la Depresión de Hamilton (*Hamilton Depression Rating Scale*)
- IL:** Interleucinas (*Interleukin*)
- IMAO:** Inhibidores de la monoamina oxidasa (*Monoamine oxidase inhibitors, MAOIs*)
- INF:** Interferón
- IP2:** Inositol bifosfato (*Inositol 4,5-Triphosphate*)
- IP3:** Inositol trifosfato (*Inositol 1, 4, 5-Triphosphate*)
- IRD:** Inhibidores de la recaptación de dopamina (*Dopamine reuptake inhibitor, DRI or DARI*)
- IRMA:** Inhibidores reversibles de la MAO-A (*Reversible inhibitors of monoamine MAO-A inhibitors, RIMA*)
- IRN:** Inhibidores de la recaptación de noradrenalina (*Norepinephrine reuptake inhibitor, NR or NERI*)
- IRND:** Inhibidores de la recaptación de noradrenalina y dopamina (*Norepinephrine-dopamine reuptake inhibitor, NDRI*)
- IRS:** Inhibidores de la recaptación de serotonina (*Serotonin reuptake inhibitors, SRIs*)

## Abreviaturas

- IRSN:** Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y noradrenalina (*Serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors, SNRIs*)
- ISRS:** Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (*Selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs*)
- Kmax:** Constante de afinidad
- LCR:** Líquido Cefalorraquídeo (*Cerebrospinal Fluid, CSF*)
- LSD:** Dietilamida del ácido d-lisérgico (*d-lysergic acid diethylamide*)
- MAO:** Monoamina oxidasa (*Monoamine oxidase*)
- MARKS:** Cinasa reguladora de afinidad a microtúbulos (*Myristoylated alanine-rich C kinase substrate*)
- NA:** Noradrenalina (*Noradrenaline, NE*)
- NAD+:** Glicerol 3-Fosfato Deshidrogenasa (*Nicotinamide adenine dinucleotide*)
- NASSA:** Antidepresivos noradrenérgicos y serotoninérgicos específicos (*Noradrenergic and specific serotonergic antidepressant*)
- NAT:** Transportador de noradrenalina (*Noradrenaline transporter, NET*)
- NCS:** Encuesta Nacional de Comorbilidad (*National Comorbidity Survey*)
- NICE:** Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica (*National Institute for Health and Clinical Excellence*)
- NK:** Células Natural Killer
- NO:** Óxido nítrico (*Nitric oxide*)
- NPxY:** Secuencia aminoácídica formada por asparragina-prolina-cualquier aminoácido- tirosina
- OMS:** Organización Mundial de la Salud (*World Health Organization, WHO*)
- PAS:** Escala de Anhedonia Física (*Physical Anhedonia Scale*)
- PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase chain reaction*)
- PHQ:** Cuestionario sobre la Salud del Paciente (*Patient Health Questionnaire*)
- PI:** Terapia Interpersonal (*Interpersonal Therapy, IPT*)
- PIP2:** Fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (*Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*)
- PKA:** Proteína cinasa A (*Protein Kinase A*)
- PKC:** Proteína cinasa C (*Protein Kinase C*)
- PKG:** Proteína cinasa G (*Protein Kinase G*)
- PP:** Proteína fosfatasa (*Protein Phosphatase*)
- PTB:** Dominio fosfotirosina de unión (*Phosphotyrosine-binding domain*)
- PVDF:** Difluoruro de polivinilideno (*Polyvinylidene Fluoride*)
- RBL:** Células de leucemia basofílicas de ratas (*Rat Basophilic Leukemia cells*)

## Abreviaturas

- RELN:** Gen de la reelina (*Reelin gene*)
- Reln<sup>+/+</sup>:** ratones salvajes (*wild-type mice*)
- Reln<sup>+/-</sup>:** ratones heterocigotos reeler (*heterozygous reeler mice*)
- Reln<sup>-/-</sup>:** ratones homocigotos reeler (*homozygous reeler mice*)
- REM:** Sueño de movimientos oculares rápidos (*Rapid eye movement*)
- SAS:** Escala de Anhedonia Social (*Social Anhedonia Scale*)
- EAA:** Self-Assesment Anhedonia Scale
- SANS:** Escala para la Evaluación de Síntomas Negativos (*Scale for the Assessment of Negative Symptoms*)
- SERT:** Transportador de serotonina (*Serotonin transporter*)
- SERT-KO:** Ratones “knockouts” para SERT
- SI:** Sinapsis Inmunológica (Immunology synapse)
- SLC:** Transportadores de soluto (*Solute carrier family*)
- SNARE:** Complejo receptor de de la proteína SNAP, proteína de unión al factor sensitivo n-etil-maleimida soluble (*Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor-attachment protein receptor*)
- SNC:** Sistema Nervioso Central (*Central Nervous System, CNS*)
- SNP:** Sistema Nervioso Periférico (*Peripheral Nervous System, PNS*)
- STAR\*D:** Alternativas de Tratamiento Secuencial para la Depresión (*Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression*)
- TAG:** Trastorno de ansiedad generalizada (*Generalized anxiety disorder, GAD*)
- TB:** Trastorno Bipolar (*Bipolar disorder BD*)
- TD:** Trastorno Distímico (*Dysthymic disorder*)
- TDM:** Trastorno Depresivo Mayor (*Major Depressive Disorder, MDD*)
- TEC:** Terapia Electroconvulsiva (*Electroconvulsive therapy, ECT*)
- TEP:** Trastorno de Estrés Postraumático (*Post-traumatic stress disorder, PTSD*)
- TPH:** Triptófano hidroxilasa (*Tryptophan hydroxylase*)
- TNF:** Factor de Necrosis Tumoral (*Tumoral Necrosis Factor*)
- V<sub>max</sub>:** Velocidad máxima de transporte
- 5-HIAA:** Acido 5-Hidroxiindolacético (*5-Hydroxyindoleacetic acid*)
- 5-HT:** 5-Hidroxitriptamina, Serotonina (*5-hydroxytryptamine, Serotonin*)
- 5-HTP:** 5-Hidroxitriptófano (*5-Hydroxytryptophan*)

# **Anexos**





## Anexo 1: CIE-10

### (F30-39) Trastornos del humor (afectivos)

#### (F32) Episodio depresivo

- (F32.0) Episodio depresivo leve.
- (F32.1) Episodio depresivo moderado.
- (F32.2) Episodio depresivo grave sin síntomas psicóticos.
- (F32.3) Episodio depresivo grave con síntomas psicóticos.
- (F32.8) Otros episodios depresivos.
- **(F32.9) Episodio depresivo sin especificación.**

#### (F33) Trastorno depresivo recurrente

- (F33.0) Trastorno depresivo recurrente, episodio actual leve.
- (F33.1) Trastorno depresivo recurrente, episodio actual moderado.
- (F33.2) Trastorno depresivo recurrente, episodio actual grave sin síntomas psicóticos.
- (F33.3) Trastorno depresivo recurrente, episodio actual grave con síntomas psicóticos.
- (F33.4) Trastorno depresivo recurrente actualmente en remisión.
- (F33.8) Otros trastornos depresivos recurrentes.
- (F33.9) Trastorno depresivo recurrente sin especificación.

#### (F34) Trastorno afectivos persistentes

- (F34.0) Ciclotimia
- **(F34.1) Distimia**
- (F34.8) Otros trastornos afectivos persistentes.
- (F34.9) Trastorno afectivo persistente sin especificación.

## Anexo 2: DSM-IV-TR

### 6. Trastornos depresivos (Índice con códigos CIE-10)

#### Episodios afectivos

- **Episodio depresivo mayor**
- Episodio maníaco
- Episodio mixto
- Episodio hipomaniaco

#### Trastornos depresivos

**F32.x Trastorno depresivo mayor, episodio único (296.2x)**

**F33.x Trastorno depresivo mayor, recidivante (296.3x)**

**F34.1 Trastorno distímico (300.4)**

**F32.9 Trastorno depresivo no especificado (311)**

#### **Especificaciones para describir el episodio más reciente**

- Especificaciones de gravedad/psicosis/remisión para el episodio depresivo mayor actual (o más reciente).
- Especificaciones de gravedad/psicosis/remisión para el episodio maníaco actual (o más reciente).
- Especificaciones de gravedad/psicosis/remisión para el episodio mixto actual (o más reciente).
- Especificación de cronicidad.
- Especificación de síntomas catatónicos/melancólicos y atípicos.
- Especificación de inicio en el postparto.
- 

#### **Especificaciones que describen el curso de los episodios recidivantes**

- Especificación de curso longitudinal
- Especificación de patrón estacional
- Especificación de ciclos rápidos

### **Anexo 3: Criterios para el episodio depresivo mayor**

A. Presencia de cinco (o más) de los siguientes síntomas durante un período de 2 semanas, que representan un cambio respecto a la actividad previa; uno de los síntomas debe ser 1) estado de ánimo depresivo o 2) pérdida de interés o de la capacidad para el placer.

**Nota:** No se incluyen los síntomas que son claramente debidos a enfermedad médica o las ideas delirantes o alucinaciones no congruentes con el estado de ánimo.

1. Estado de ánimo depresivo la mayor parte del día, casi cada día según lo indica el propio sujeto (p. ej., se siente triste o vacío) o la observación realizada por otros (p. ej., llanto). En los niños y adolescentes el estado de ánimo puede ser irritable.

2. Disminución acusada del interés o de la capacidad para el placer en todas o casi todas las actividades, la mayor parte del día, casi cada día (según refiere el propio sujeto u observan los demás).

3. Pérdida importante de peso sin hacer régimen o aumento de peso (p. ej., un cambio de más del 5 % del peso corporal en 1 mes), o pérdida o aumento del apetito casi cada día. Nota: En niños hay que valorar el fracaso en lograr los aumentos de peso esperables.

4. Insomnio o hipersomnia casi cada día.

5. Agitación o enlentecimiento psicomotores casi cada día (observable por los demás, no meras sensaciones de inquietud o de estar enlentecido).

6. Fatiga o pérdida de energía casi cada día.

7. Sentimientos de inutilidad o de culpa excesivos o inapropiados (que pueden ser delirantes) casi cada día (no los simples autorreproches o culpabilidad por el hecho de estar enfermo).

8. Disminución de la capacidad para pensar o concentrarse, o indecisión, casi cada día (ya sea una atribución subjetiva o una observación ajena).

9. Pensamientos recurrentes de muerte (no sólo temor a la muerte), ideación suicida recurrente sin un plan específico o una tentativa de suicidio o un plan específico para suicidarse.

B. Los síntomas no cumplen los criterios para un episodio mixto.

C. Los síntomas provocan malestar clínicamente significativo o deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo.

D. Los síntomas no son debidos a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (p. ej., una droga, un medicamento) o una enfermedad médica (p. ej., hipotiroidismo).

E. Los síntomas no se explican mejor por la presencia de un duelo (p. ej., después de la pérdida de un ser querido), los síntomas persisten durante más de 2 meses o se caracterizan por una acusada incapacidad funcional, preocupaciones mórbidas de inutilidad, ideación suicida, síntomas psicóticos o enlentecimiento psicomotor.

***Relación con los Criterios Diagnósticos de la CIE-10***

La CIE-10 menciona diez síntomas, a diferencia del DSM-IV (donde la pérdida de autoestima constituye un síntoma diferente del sentimiento inapropiado de culpabilidad). Contiene criterios diagnósticos distintos para cada nivel de gravedad del episodio depresivo mayor: un mínimo de 4 de los 10 síntomas define el nivel leve; de 6 de 10 síntomas, el nivel moderado, y de 8 de 10, el nivel grave. Además, la CIE-10 requiere la presencia de al menos 2 de los 3 síntomas siguientes: estado de ánimo depresivo, pérdida del interés y pérdida de energía, para los episodios depresivos de carácter leve y moderado, y los 3 síntomas para los episodios graves, para realizar el diagnóstico. Por último, la definición de la CIE-10 de los episodios con síntomas psicóticos excluye la presencia de síntomas de primer nivel y delirios extraños (APA, 2000)

**Anexo 4: Criterios para el diagnóstico de Trastorno depresivo mayor**

**F32.x Trastorno depresivo mayor, episodio único (296.2x)**

- A. Presencia de un único episodio depresivo mayor.
- B. El episodio depresivo mayor no se explica mejor por la presencia de un trastorno esquizoafectivo y no está superpuesto a una esquizofrenia, un trastorno esquizofreniforme, un trastorno delirante o un trastorno psicótico no especificado.
- C. Nunca se ha producido un episodio maniaco, un episodio mixto o un episodio hipomaniaco. **Nota:** Esta exclusión no es aplicable si todos los episodios similares a la manía, a los episodios mixtos o a la hipomanía son inducidos por sustancias o por tratamientos o si se deben a los efectos fisiológicos directos de una enfermedad médica.

*Codificar el estado del episodio actual o más reciente:*

- .0 Leve**
- .1 Moderado**
- .2 Grave sin síntomas psicóticos**
- .3 Grave con síntomas psicóticos**
- .4 En remisión parcial/en remisión total**
- .9 No especificado**

*Especificar (para el episodio actual o para el más reciente):*

- Crónico**
- Con síntomas catatónicos**
- Con síntomas melancólico**
- Con síntomas atípicos**
- De inicio en el posparto**

**F33.x Trastorno depresivo mayor, recidivante (296.3x)**

A. Presencia de dos o más episodios depresivos mayores.

**Nota:** Para ser considerados episodios separados tiene que haber un intervalo de al menos 2 meses seguidos en los que no se cumplan los criterios para un episodio depresivo mayor.

B. Los episodios depresivos mayores no se explican mejor por la presencia de un trastorno esquizoafectivo y no están superpuestos a una esquizofrenia, un trastorno esquizofreniforme, un trastorno delirante o un trastorno psicótico no especificado.

C. Nunca se ha producido un episodio maníaco, un episodio mixto o un episodio hipomaníaco. **Nota:** Esta exclusión no es aplicable si todos los episodios similares a la manía, a los episodios mixtos o a la hipomanía son inducidos por sustancias o por tratamientos, o si son debidos a los efectos fisiológicos directos de una enfermedad médica.

*Codificar el estado del episodio actual o más reciente:*

**.0 Leve**

**.1 Moderado**

**.2 Grave sin síntomas psicóticos**

**.3 Grave con síntomas psicóticos**

**.4 En remisión parcial/en remisión total**

**.9 No especificado**

*Especificar (para el episodio actual o el más reciente):*

**Crónico**

**Con síntomas catatónicos**

**Con síntomas melancólicos**

**Con síntomas atípicos**

**De inicio en el posparto**

*Especificar:*

**Especificaciones de curso (con y sin recuperación interepisódica)**

**Con patrón estacional**

***Relación con los Criterios Diagnósticos de la CIE-10***

Respecto al trastorno depresivo mayor, la CIE-10 propone un umbral distinto para definir cuándo el trastorno se considera un episodio aislado o dos episodios separados recidivantes. Exige la presencia de un período libre de cualquier síntoma significativo de alteración del estado de ánimo de por lo menos 2 meses entre estos episodios, mientras que los criterios del DSM-IV requieren un intervalo de como mínimo 2 meses consecutivos, en que no se cumpla la totalidad de criterios diagnósticos del episodio depresivo mayor.

El diagnóstico de trastorno distímico requiere que el estado de ánimo depresivo se acompañe de 3 síntomas de una lista de 11 (que contiene, por su parte, 5 de los 6 síntomas que aparecen en el DSM-IV). Además, limita la coexistencia de episodios depresivos mayores a “ninguno o muy pocos” y especifica que el trastorno distímico puede aparecer justo después de un episodio depresivo sin que medie un período de remisión total (APA, 2000).





## Anexo 5: Escala de Valoración de Hamilton para la Depresión (Hamilton Depression Rating Scale, HDRS).

<b>Ítem</b>	<b>Valoración</b>
<i>1. Estado de ánimo deprimido (sensación de tristeza, desesperanza, desamparo, inutilidad)</i>	0. Ausente 1. Expresa estas sensaciones solamente al ser preguntado 2. Expresa estas sensaciones espontáneamente de manera verbal 3. Expresa estas sensaciones de manera no verbal (p. ej., por medio de la expresión facial, la postura, la tendencia al llanto) 4. Expresa estas sensaciones de manera verbal y no verbal, de forma espontánea
<i>2. Sentimiento de culpabilidad</i>	0. Ausente 1. Se culpa a sí mismo, siente que ha decepcionado a la gente 2. Ideas de culpabilidad o culpabilidad por errores pasados o malas acciones 3. La enfermedad actual es un castigo. Ideas delirantes de culpabilidad 4. Oye voces acusatorias o de denuncia y/o tiene alucinaciones visuales Amenazadoras
<i>3. Suicidio</i>	0. Ausente 1. Piensa que no vale la pena vivir la vida 2. Desearía estar muerto o piensa en la posibilidad de quitarse la vida 3. Piensa o amenaza con la manera de suicidarse 4. Intentos de suicidio (cualquier intento de suicidio se clasifica en 4)
<i>4. Insomnio al principio de la noche</i>	0. Ausente. No tiene dificultad para dormirse 1. Se queja de que le cuesta dormirse algunas veces (por ejemplo, tarda más de media hora en dormirse) 2. Se queja de que le cuesta dormirse siempre (todas las noche)
<i>5. Insomnio durante la mitad de la noche</i>	0. Ausente 1. Se queja de que está inquieto durante la noche 2. Está despierto durante la noche (si se levanta de la cama por cualquier razón se puntúa en 2, excepto si va al servicio)
<i>6. Insomnio al final de la noche</i>	0. Ausente 1. Se despierta a primera hora de la madrugada pero se vuelve a dormir 2. Es incapaz de volver a dormirse si se levanta de la cama
<i>7. Trabajo y actividades</i>	0. No tiene dificultad 1. Ideas y sentimientos de incapacidad. Fatiga o debilidad relacionadas con su actividad, trabajo o aficiones 2. Pérdida de interés en su actividad, trabajo o aficiones (directamente expresado por el paciente o indirectamente deducido por su desatención, indecisión y vacilación; siente que debe esforzarse en su trabajo o actividades) 3. Acortamiento del tiempo dedicado a actividades o disminución de la productividad 4. Dejó de trabajar por la enfermedad actual

8. *Inhibición*  
(lentitud en el pensamiento y de lenguaje; pérdida de la capacidad de concentración, disminución de la actividad motora)
0. Habla y piensa normalmente  
1. Ligera inhibición durante la entrevista  
2. Evidente inhibición durante la entrevista  
3. Entrevista larga y difícil  
4. Estupor (no habla ni piensa). Entrevista imposible
9. *Agitación*
0. Ausente  
1. No puede estar quieto  
2. Juega con sus manos, cabello, etc.  
3. Cambia constantemente de posición, no puede estar sentado  
4. Se frota las manos, se muerde las uñas, se tira de los cabellos, se muerde los labios
10. *Ansiedad psíquica*
0. Ausente  
1. Tensión subjetiva, irritabilidad  
2. Preocupación por cosas sin importancia  
3. Actitud aprensiva aparente en la cara y el lenguaje  
4. Expresa temores espontáneamente sin ser preguntado  
Signos fisiológicos concomitantes con la ansiedad, tales como gastrointestinales (boca seca, flatulencia, indigestión, diarrea, retortijones, eructos); cardiovasculares (palpitaciones, cefalalgias); respiratorios (hiperventilación, suspiros); frecuencia urinaria; sudoración
11. *Ansiedad somática*
0. Ausente  
1. Ligera  
2. Moderada  
3. Grave  
4. Incapacitante
12. *Síntomas somáticos gastrointestinales*
0. Ausente  
1. Pérdida del apetito, pero come sin necesidad de que le insistan. Sensación de pesadez abdominal  
2. Dificultad para comer si no se le insiste. Solicita o requiere laxantes o medicación para sus síntomas gastrointestinales
13. *Síntomas somáticos generales*
0. Ausente  
1. Sensación de pesadez en las extremidades, espalda o cabeza. Dorsalgias, cefalgias, algias musculares. Pérdida de energía y fatigabilidad  
2. Cualquier síntoma somático bien definido se puntúa 2
14. *Síntomas genitales*
0. Ausente  
1. Leve  
2. Grave
15. *Hipocondría*
0. Ausente  
1. Está preocupado por las funciones corporales y por síntomas orgánicos  
2. Está muy preocupado porque piensa que tiene una enfermedad orgánica  
3. Está convencido de que tiene una enfermedad orgánica. Solicita ayuda, exploraciones, etc.  
4. Ideas delirantes hipocondríacas

16. *Conciencia de enfermedad*
0. Reconoce que está deprimido y enfermo  
1. Reconoce su enfermedad pero la atribuye a otras causas, como la mala alimentación, el clima, el exceso de trabajo, un virus, la necesidad de descanso, etc.  
2. Niega que está enfermo
- A
0. No hay pérdida de peso  
1. Probable pérdida de peso asociada con la enfermedad actual  
2. Pérdida de peso conocida y expresada por el paciente
17. *Pérdida de peso*  
(completar A en la primera evaluación y B en las siguientes)
- B
0. No hay pérdida de peso o pérdida de peso inferior a 500 g en una semana  
1. Pérdida de peso superior a 500 g en la semana anterior  
2. Pérdida de peso superior a 1 kg en la semana anterior
- A
- Anotar si los síntomas empeoran por la mañana o por la tarde. Si no hay variación durante el día marque «ninguna»
0. Ninguna  
1. Peor por la mañana  
2. Peor por la tarde
18. *Variación diurna*
- B
- Cuando haya variación, puntúe su intensidad. Marque «ninguna» si no hay variación
0. Ninguna  
1. Leve  
2. Grave
0. Ausente  
1. Leve  
2. Moderada  
3. Grave  
4. Incapacitante
19. *Despersonalización y desrealización* (tales como sensación de irrealidad, ideas nihilistas)
0. Ninguno  
1. Suspicious  
2. Ideas de referencia  
3. Delirios de referencia y persecución  
4. Alucinaciones
20. *Síntomas paranoides*
0. Ausentes  
1. Leves  
2. Graves
21. *Síntomas obsesivos y compulsivos*

**La HDRS-17 comprende los 17 primeros ítems**



## Anexo 6: Escala de Autoevaluación de la Anhedonia (EAA)

Por favor, CONTESTE A LAS SIGUIENTES PREGUNTAS. Después de cada pregunta verá tres líneas como estas:

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

Deberá hacer en cada línea una señal a bolígrafo en el sitio que considere más adecuado según lo que le pregunten.

**POR EJEMPLO, si le preguntan: ¿DISFRUTA USTED COMIENDO?**

En la primera línea verá que pone a la izquierda “MUCHO” y a la derecha “NADA”. Si usted disfruta mucho comiendo deberá hacer la señal a bolígrafo cerca de la palabra MUCHO. Cuanto más disfrute, más cerca de la palabra MUCHO la deberá poner. Si usted disfruta poco comiendo deberá colocar la señal cerca de la palabra NADA. Cuanto menos disfrute, más cerca de la palabra NADA deberá hacer la señal.

En la segunda línea pone a la izquierda “NUNCA” y a la derecha “SIEMPRE”. Cuanto más a menudo disfrute comiendo, más cerca de la palabra SIEMPRE colocará la señal. Cuanto menos frecuente sea que usted disfrute comiendo, más cerca de la palabra NUNCA colocará la señal.

En la tercera línea pone a la izquierda “IGUAL QUE ANTES” y a la derecha “MENOS QUE ANTES”. Disfrutar comiendo IGUAL QUE ANTES significa que no ha notado ningún cambio. En cambio, si usted nota que últimamente disfruta menos comiendo de lo que solía disfrutar habitualmente, colocará la señal más cerca de las palabras MENOS QUE ANTES, tanto más cerca cuanto más intensa sea esa sensación.

*Anexos*

1.- ¿DISFRUTA USTED COMIENDO?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

2.- ¿DISFRUTA CUANDO LE DAN UN MASAJE?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

3.- ¿DISFRUTA CONTEMPLANDO UNA PUESTA DE SOL O UN PAISAJE AGRADABLE?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

4.- ¿DISFRUTA REFRESCÁNDOSE (TOMANDO BEBIDAS FRIAS O UTILIZANDO UN VENTILADOR, POR EJEMPLO) CUANDO TIENE MUCHO CALOR?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

5.- ¿DISFRUTA IMAGINÁNDOSE SITUACIONES EN LAS QUE CREE DISFRUTARÍA MUCHO?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

6.- ¿DISFRUTA JUGANDO CON NIÑOS PEQUEÑOS?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

*Anexos*

7.- ¿DISFRUTA TOCANDO COSAS SUAVES COMO, POR EJEMPLO, LA SEDA?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

8.- ¿DISFRUTA CUANDO SALE A DAR UN PASEO?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

9.- ¿DISFRUTA TOMANDO EL SOL?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

10.- ¿DISFRUTA DE UNA SENSACIÓN DE BIENESTAR GENERAL DESPUÉS DE DARSE UN BAÑO O UNA DUCHA?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

11.- ¿DISFRUTA RECORDANDO SITUACIONES EN LAS QUE HA DISFRUTADO ANTERIORMENTE?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

12.- ¿LE GUSTA PROLONGAR EL HACER ALGO QUE LE HACE GUSTA EL MAYOR TIEMPO POSIBLE?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

13.- ¿DISFRUTA DE UNA SENSACIÓN DE BIENESTAR GENERAL TRAS UNA BUENA COMIDA?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

*Anexos*

14.- ¿DISFRUTA DEL PLACER OBTENIDO CUANDO REALIZA ALGUNA ACTIVIDAD SEXUAL?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

15.- DESPUÉS DE HACER DEPORTE, ¿DISFRUTA DE UNA AGRADABLE SENSACIÓN EN TODO EL CUERPO?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

16.- ¿DISFRUTA ESTANDO CON SU FAMILIA O AMIGOS?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

17.- ¿DISFRUTA CONOCIENDO NUEVAS PERSONAS?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

18.- ¿DISFRUTA CUANDO ASISTE A FIESTAS?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

19.- ¿DISFRUTA CUANDO VA AL CINE, AL TEATRO O A UN CONCIERTO?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

20.- ¿DISFRUTA DE SUS ACTIVIDADES HABITUALES?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES



*Anexos*

21.- ¿CREE QUE TIENE CAPACIDAD PARA DISFRUTAR DE LAS COSAS EN GENERAL?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

22.- ¿DISFRUTA CUANDO SUS SERES QUERIDOS LE MANIFIESTAN SU CARIÑO CON BESOS Y ABRAZOS?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

23.- ¿DISFRUTA DE LA SENSACIÓN DE LLENAR LOS PULMONES DE AIRE FRESCO?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

24.- SI HACE MUCHO CALOR, O DESPUÉS DE HABER HECHO UN ESFUERZO FÍSICO, ¿DISFRUTA DÁNDOSE UN BAÑO O

UNA DUCHA?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

25.- ¿DISFRUTA OYENDO MÚSICA?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

26.- ¿DISFRUTA PROVANDO NUEVOS PLATOS O NUEVOS SABORES?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES

27.- ¿CREE QUE EL SEXO ES UNA ACTIVIDAD AGRADABLE?

MUCHO	_____	NADA
NUNCA	_____	SIEMPRE
IGUAL QUE ANTES	_____	MENOS QUE ANTES



# **Publicaciones**



**El trabajo de esta tesis se ha recogido en las siguientes publicaciones:**

1. Rivera-Baltanás T., Romay-Tallón R., Dopeso-Reyes I.G. y Caruncho H.J. (2010) Serotonin Transporter Clustering in Blood Lymphocytes of Reeler Mice. *Cardiovasc Psychiatry Neurol*, 396282.
2. Rivera-Baltanás T. y Caruncho H.J. (2010) Biomarkers of depression. *Rev Neurol*, 50:470-6. Review.
3. Rivera-Baltanás T., Olivares J.M., Calado-Otero M., Kalynchuk L.E., Martínez-Villamarín J.R. y Caruncho H.J. (2012) Serotonin transporter clustering in blood lymphocytes as a putative biomarker of therapeutic efficacy in major depressive disorder. *J Affect Disord* (en prensa).
4. Rivera-Baltanás T., Olivares J.M., Calado-Otero M., Martínez-Villamarín J.R. y Caruncho H.J. (2012) 5-HT<sub>2A</sub> receptor clustering in lymphocytes is altered in major depressive disorder (enviado, *Journal of Affective Disorder*).
5. Rivera-Baltanás T., Caruncho H.J., Calado-Otero M., Martínez-Villamarín J.R. y Olivares J.M. (2012) Alterations in SERT and 5-HT<sub>2A</sub> receptor clustering in lymphocytes in relation with anhedonia improvement upon treatment in major depressive disorder (en preparación).