

T
1180

 XOCOMAILOS SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

124202

11702



UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO PERIFÉRICO
COMO MARCADOR BIOLÓGICO DE LA DEPRESIÓN**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

JULIA MORENO AGUILAR

Directores de Tesis

Dr. CARLOS TORNER AGUILAR
Dra. MARÍA GUADALUPE CAMPOS LARA

Asesora
Dra. CARMEN LARA MUÑOZ

EL DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA PERTENECE AL PADRÓN DE POSGRADOS DE EXCELENCIA DEL **CONACYT** Y ADEMÁS CUENTA CON APOYO DEL MISMO CONSEJO, CON EL CONVENIO **PFP-20-93**.

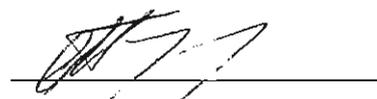
El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las
Unidades Iztapalapa y Xochimilco aprobó la tesis que presentó

Julia Moreno Aguilar

El día 29 de Junio del año 2006

Jurado:

Codirector: Dr. Carlos Torner Aguilar



Codirectora: Dra. María Guadalupe Campos Lara



Sinodal: Dra. María Salud Pérez Gutiérrez



Sinodal: Dra. Ana María Rosales Torres



Sinodal: Dra. María de la Luz Navarro Angúlo



A la memoria del Dr. Ramón de la Fuente M

Al Dr. Gerardo Heinze por el apoyo que siempre me ha brindado

Agradezco la paciencia y la guía de mis tutores:

Dr. Carlos Torner Aguilar, Dra. Guadalupe Campos Lara y Carmen Lara M

A la memoria de mi padre

y al apoyo de mi madre y hermanas

A mi esposo e hijos

por su apoyo y paciencia

A mis queridas amigas,

Por su cariño, afecto y solidaridad

**EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO PERIFÉRICO COMO
MARCADOR BIOLÓGICO DE LA DEPRESIÓN
INDICE**

	Página
Resumen	3
Summary	4
Introducción	5
Justificación	30
Estudio 1. Variaciones mensuales del sistema serotoninérgico en sujetos sanos	
Objetivos	31
Hipotésis	31
Material y métodos	31
Resultados	34
Discusión	38
Estudio 2. El sistema serotoninérgico periférico en pacientes deprimidos	
Objetivos	42
Hipótesis	42
Material y métodos	43
Resultados	49
Discusión	54
Discusión general	59
Conclusiones	68
Referencias bibliográficas	69

Resumen

En esta tesis se revisaron los estudios publicados en los que se propone que las mediciones periféricas (sangre, suero, plasma y/o plaquetas) de serotonina y su precursor triptófano, así como la constante de afinidad (K_d) y la densidad (B_{max}) del transportador plaquetario de serotonina, podrían ser útiles como marcadores biológicos periféricos de la depresión. Debido a que los resultados de cada autor son diferentes de los demás, se documenta la controversia que existe respecto a la utilidad de estas mediciones.

Se discuten las posibles causas de la controversia, de las que se destacan dos, una metodológica y otra fisiológica, aunque se consideran además los aspectos étnicos. De acuerdo con esta perspectiva, se diseñaron dos estudios, el primero fue metodológico, en el que se estudiaron las concentraciones de los niveles de serotonina y triptófano en sangre, suero, plasma, y/o plaquetas, cada mes durante un período de un año. Con este estudio se evaluaron las diferentes preparaciones sanguíneas para verificar sus variaciones temporales aspecto que se desconocía en nuestro país.

El segundo estudio fue para estudiar la utilidad de las concentraciones de 5-HT y TRP en plasma, sangre, y plaquetas, como posibles marcadores biológicos periféricos de la depresión, o de los efectos del tratamiento con fármacos antidepresivos inhibidores de la recaptura de serotonina.

Los resultados del primer estudio mostraron que, aunque el clima en México no tiene variaciones extremas como es el caso de los países nórdicos, el contenido de serotonina en el plasma rico en plaquetas de sujetos voluntarios sanos Mexicanos, mostró un perfil de variaciones circanual, el cual correlaciona inversamente con el fotoperíodo, de modo que los niveles más bajos de la serotonina coinciden con la mayor duración de la luz diurna. A diferencia del TRP que no tuvo variaciones significativas a lo largo del año, aunque mostró una tendencia hacia una posible ritmicidad, por lo que habrá que aumentar el número de pacientes estudiados.

El estudio clínico mostró que:

Los sujetos mexicanos no mostraron diferencias en las concentraciones de serotonina en sangre, ni en plaquetas, ni en las concentraciones de triptófano en sangre, cuando se compararon las muestras de pacientes deprimidos con las muestras de los controles sanos.

El tratamiento con medicamentos antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina se asociaron con la disminución de la concentración de serotonina, tanto en la sangre como en las plaquetas, aunque no se encontraron cambios similares en las concentraciones de TRP.

En las condiciones de nuestros pacientes, al contrario de TRP, la serotonina en sangre o en plaquetas no parece ser un indicador de estado de la depresión, aunque pudiera ser un punto de referencia para el tratamiento. Sin embargo, es necesario estudiar aun más este aspecto.

Summary

This work presents a review of the studies proposing that the serotonin (in blood, serum, plasma or platelets) or its precursor tryptophan, as well as the affinity constant (Kd), and the receptors density (Bmax), of the platelet serotonin transporter, could be useful as peripheral markers of depression. Due to each author's results were different from others, there is a controversy regarding the utility of these serotonin blood aspects.

Some possible causes of the controversy are discussed, from which we considered two to cope in this work: the methodological and physiologic aspects, although the ethnic aspects were also considered. Two studies were designed in agreement with this perspective, the first one was methodological to evaluate the best blood preparation to study the serotonin peripheral system, by measuring the serotonin and tryptophan concentrations in blood, serum, plasma and platelets, every month during a period of one year. In this study the different blood preparations were monthly evaluated to verify their possibly time dependent variations, that is an aspect hitherto not characterized in our country.

The second study was designed to study the utility of the concentrations of 5-HT and TRP in plasma, blood, and platelets, as possible biological peripheral markers of depression, and the effects of antidepressant treatment with selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI).

The results of the first study showed that, although the climate in Mexico does not have extreme variations as the Nordic countries, the serotonin content in the platelet rich plasma preparation showed a circannual variations profile, inversely correlated to the photoperiod, thus, the lowest serotonin levels the largest duration of day light. Contrarily, the TRP blood concentrations did not showed significant variations along the year, although it showed the tendency toward a possible rhythm. Further studies will be necessary to determine the possible TRP rhythm.

The clinical study showed that:

When the blood samples of depressed patients were compared with the blood samples of the healthy controls, they did not show differences in blood serotonin concentrations, as well as in the platelet preparation, and neither in the blood tryptophan concentration.

The treatment with antidepressants medication (SSRI's) elicits a decrease in blood and platelet serotonin concentrations, but not in TRP concentrations.

In Mexican subjects, the blood or platelets serotonin concentrations do not seem to be indicators of the depression, although it could be a reference point for the treatment. However, further studies on these aspects are needed.

INTRODUCCIÓN

Conceptos generales

La serotonina inicialmente se llamó “enteramina” porque se aisló de las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal. **Page (1976)** fue el primero en aislar y caracterizar químicamente una sustancia vasoconstrictora liberada por las plaquetas de sangre coagulada, esta sustancia aislada del torrente sanguíneo recibió el nombre de serotonina, por ser una “sustancia en el suero que aumenta el tono de los vasos”. La caracterización posterior de la serotonina y de la enteramina mostró que eran la misma molécula.

El interés inicial por la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) derivó de la demostración de que la dietilamida del ácido lisérgico (LSD, un agonista serotoninérgico), causaba profundos efectos sobre el estado de ánimo y la conducta, además de estados alucinatorios. Por otro lado, los médicos que trataban a los pacientes tuberculosos con iproniazida, (un medicamento antituberculoso inhibidor de la enzima monoamino-oxidasa), encontraron que incrementaba la concentración tisular de serotonina, lo que correlacionaba con la mejoría del estado anímico de los pacientes (**West y Dally, 1959**).

Al inicio de la década de los cincuenta se encontró que la reserpina, que se utilizaba como agente antihipertensivo, producía la disminución de las reservas celulares de monoaminas, incluyendo la serotonina, lo que parecía causar como efecto colateral un cuadro depresivo. En ese tiempo aún se desconocía si la serotonina era un compuesto cerebral endógeno, sin embargo, diversos métodos de bioensayos y espectrofluorimetría desarrollados en esta década, mostraron concentraciones de serotonina en áreas específicas del cerebro de los mamíferos. Adicionalmente, los estudios de histofluorescencia hacia la mitad de los años sesenta mostraron las vías que contenían monoaminas en el sistema nervioso central (SNC), (**Owens y Nemeroff, 1994**).

El papel de la serotonina como neurotransmisor se demostró después de 20 años de su identificación y despertó el interés de los psiquiatras porque la reserpina, que también se utilizaba como medicamento antipsicótico antes de la época moderna de la psicofarmacología, al disminuir las monoaminas cerebrales, causaba depresión en los pacientes al mismo tiempo que se producía el efecto antipsicótico. Esto dio lugar a las primeras teorías bioquímicas de la depresión: la teoría catecolaminérgica de la depresión (**Schildkraut, 1965**), y un poco después a la teoría serotoninérgica o indolaminérgica de la depresión (**Coppen, 1967**). La primera relación directa entre la serotonina y la depresión fue cuando se encontró que el precursor de esta amina, el triptófano (TRP), aumentaba el efecto antidepresivo de los inhibidores de la monoamino-oxidasa (MAO) (**Coppen, 1963**).

El interés actual por el papel de la serotonina en psiquiatría se debe a tres factores relacionados: a) existen evidencias para apoyar la tesis de que los sistemas serotoninérgicos se alteran en pacientes con depresión; b) el extraordinario progreso tanto en la clonación de los subtipos del receptor serotonina, así como en la síntesis de agonistas y antagonistas selectivos para los diversos subtipos de receptores serotoninérgicos, y c) la síntesis y el desarrollo de compuestos altamente selectivos para inhibir la recaptura de serotonina, tanto en las terminales nerviosas como en otras células que tengan al transportador para la captura de serotonina, como las plaquetas. Todo esto ha permitido estudiar los mecanismos de acción serotoninérgicos en el efecto antidepresivo.

La serotonina interviene en múltiples procesos biológicos fundamentalmente como un neurotransmisor inhibitorio y modulador general, que participa en la regulación del sueño, el dolor, la temperatura corporal, la actividad neuroendócrina, el estado de ánimo, la actividad sexual y el apetito. Está involucrada en la impulsividad y la conducta compulsiva, y participa indudablemente en las bases biológicas de numerosos trastornos psiquiátricos como el suicidio, la anorexia nervosa, la bulimia, las alteraciones del sueño, los trastornos por ansiedad, las fobias, las crisis de angustia, la ansiedad generalizada, y los trastornos obsesivo compulsivos, además de su destacado papel en la depresión (**Fernández Labriola, 1996**).

El sistema serotoninérgico central

La serotonina se encuentra en altas concentraciones en las astas laterales de la médula espinal y en otras partes del cerebro. Las células serotoninérgicas se concentran en la parte media del tallo cerebral agrupándose en 9 núcleos principales conocidos como complejo nuclear del rafe del que nacen fibras hacia prácticamente a todo el sistema nervioso: ganglios basales, hipotálamo, tálamo, hipocampo, sistema límbico, corteza cerebral, cerebelo y médula espinal. Los núcleos más anteriores del rafe envían sus fibras hacia las partes rostrales, mientras que los más posteriores las envían hacia el tallo cerebral y la médula espinal **(Siegel, 1994)**.

La fuente primaria de triptófano es la proteína de la dieta. Después de la digestión enzimática de proteínas en el tracto intestinal, la biosíntesis de serotonina periférica toma lugar en varias formaciones celulares, principalmente en las células enterocromafines del tracto gastrointestinal. En la sangre, alrededor de 80-90% de triptófano está unido a albúmina y compite con los ácidos grasos libres por los sitios de unión **(McMenamy y col., 1957, 1961; McMenamy y Oncley, 1958)**.

La etapa inicial en la síntesis de serotonina es facilitada por el transporte del aminoácido L-triptófano de la sangre al cerebro. La entrada de triptófano al cerebro está relacionada con su concentración sanguínea y también con la concentración de otros aminoácidos neutros. Consecuentemente, una baja captación de triptófano en la dieta puede incrementar la captación de otros aminoácidos con los cuales compite para su transporte al cerebro, bajando el contenido de serotonina cerebral, provocando ciertos cambios conductuales asociados con la función cerebral de la serotonina. Las estrategias de disminuir el contenido de serotonina cerebral han sido clínicamente utilizadas para evaluar la importancia de la serotonina en los mecanismos de acción de las drogas psicoterapéuticas.

Las neuronas serotoninérgicas contienen la enzima 1-triptófano-5-mono-oxigenasa, más comúnmente llamada triptófano hidroxilasa, que convierten triptófano a 5-hidroxitriptófano. Esta enzima se encuentra solamente en las células que sintetizan

serotonina, y es la etapa limitante para su síntesis; es no saturable por el triptófano a concentraciones fisiológicas, y el producto de esta reacción, el 5-hidroxitriptófano, es un compuesto que será descarboxilado por la aminoácido- aromático-descarboxilasa para formar la 5-hidroxitriptamina o serotonina. La serotonina es metabolizada por la MAO a ácido 5 hidroxindol-acético (5HIAA). La medición del 5-HIAA en el líquido cefalorraquídeo sirve como indicador de la producción o recambio de la serotonina cerebral. En la glándula pineal la serotonina es el precursor de la melatonina.

Los elementos del sistema serotoninérgico plaquetario

El sistema serotoninérgico no es igual en las plaquetas que en las neuronas, ya que las primeras no sintetizan serotonina, la cual es tomada del plasma sanguíneo cuando las plaquetas están circulando en la sangre (**Tranzer y col., 1972**).

El sistema serotoninérgico plaquetario consiste de un mecanismo relativamente específico de recaptura, organelos de almacenamiento (cuerpos densos), una enzima para su metabolismo (la monoamino oxidasa o MAO B), y los receptores 5HT_{2a} los cuales estimulan el recambio de fosfatidilinositol, la elevación en el Ca²⁺ citoplasmático libre, la fosforilación de proteínas, y activan algunos cambios en la morfología plaquetaria. La ruta metabólica en las plaquetas es la desaminación oxidativa por la MAO B, generando el 5-hidroxitriptofol y el 5-HIAA. El metabolismo de la serotonina plaquetaria ocurre durante la recaptura y la liberación; solo una menor porción de la amina es desaminada.

El papel fisiológico de la serotonina plaquetaria no se conoce a plenitud. El lento recambio y la ausencia de rutas biosintéticas de serotonina en las plaquetas es compatible con una función reguladora bajo condiciones fisiológicas, sin embargo, debido a que las plaquetas cuentan con un mecanismo eficiente de almacenamiento y recaptura de serotonina, parece ser parte de un sistema que inactiva a la serotonina extracelular, por ejemplo, la liberada del tracto gastrointestinal hacia la circulación portal. De tal modo, una función relevante parece ser la de atrapar serotonina para su inactivación (recaptura por el tejido endotelial, MAO) Las

plaquetas también participan en la hemostasis; así, la serotonina liberada de las plaquetas que se agregan a los sitios donde hay alguna lesión vascular, tiene un efecto amplificador para la formación de los coágulos hemostáticos, y puede además causar vasoconstricción local. De hecho, los animales depletados de serotonina o tratados con antagonistas 5-HT₂ presentan mayor hemorragia en casos de lesión (**De Clerk y col., 1984**). Los pacientes con deficiencias en los almacenes celulares de serotonina también tienen alteraciones en el sangrado, lo cual puede estar relacionado con una deficiencia en el almacenamiento de serotonina (**Pletscher, 1987**). Hay evidencias de que los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina aumentan el riesgo de sangrado gastrointestinal (**Dalton y col., 2003**).

La plaqueta como modelo serotoninérgico neuronal

El concepto del uso de las plaquetas como un modelo potencial de las neuronas serotoninérgicas en psiquiatría data de los años 60. **Da Prada y col. (1988)** mencionan que las múltiples similitudes bioquímicas y farmacológicas entre las plaquetas sanguíneas y las neuronas serotoninérgicas, convierten a la plaqueta en un modelo útil para caracterizar a los liberadores y a los bloqueadores de la recaptura de serotonina, los cuales interfieren con los mecanismos de transporte activo y almacenamiento de serotonina en las neuronas.

La afinidad mostrada por la dopamina y la neurotoxina dopaminérgica MPP⁺ por el almacenamiento y transporte serotoninérgico plaquetario, indica también algunas similitudes entre las plaquetas y el sistema dopaminérgico cerebral. Por otro lado, la inaccesibilidad del cerebro humano para estudios neuroquímicos, además de las similitudes entre las plaquetas y las neuronas serotoninérgicas, y la emergente hipótesis monoaminérgica de la depresión, han estimulado el trabajo experimental y clínico asumiendo que las plaquetas pueden considerarse como un modelo neuronal, y consecuentemente, algunos autores han considerado a los parámetros serotoninérgicos plaquetarios como marcadores biológicos de la depresión (**Quintana, 1992; Moreno y col., 2005**), así como del tratamiento antidepresivo (**Menis y col., 1996; Spreux-Varoquaux y col., 1996**).

La necesidad en la psiquiatría biológica de marcadores biológicos que sustenten el modelo médico de la enfermedad psiquiátrica, la necesidad de auxiliarse de herramientas diagnósticos y predictores de respuesta disponibles, así como la relativa facilidad para obtener la muestra sanguínea, ha dado lugar a la aceptación del modelo plaquetario sin atender debidamente sus limitaciones. Se han publicado muchos estudios, pero se han descuidado algunos aspectos necesarios para que se establezcan datos normativos sólidos basados en la reproducibilidad metodológica.

El ensayo de la unión de [H^3]-imipramina en las plaquetas ha sido un parámetro extensamente estudiado como potencial marcador de estado o rasgo en los trastornos depresivos. Los reportes iniciales (**Briley y col., 1980**) indicaban que la densidad de los sitios de unión reflejaba el estado del mecanismo de recaptura de serotonina, mismos que estaban significativamente disminuidos en los pacientes deprimidos. Sin embargo, varios estudios subsecuentes reportaron resultados contradictorios. Uno de los aspectos preocupantes de los estudios de unión con [H^3]-imipramina en las plaquetas es la gran variación de los valores de B_{max} en la población control (desde 400 fmol/mg prot., hasta 2600 fmol/mg prot.). Varios autores cuestionan las diferencias metodológicas como posible razón de esta discrepancia.

La organización mundial de la salud mediante un gran estudio multicéntrico publicado en 1990 (**Mellerup y Langer, 1990**), no sostiene la validación del ensayo de unión de [H^3]-imipramina a las plaquetas como un marcador útil en casos de depresión, y aclara que es necesario un marcador más selectivo para los estudios del transportador de serotonina en los trastornos afectivos. Al respecto, la [H^3]-paroxetina parecía cumplir con este requerimiento; se había observado una excelente correlación entre el ensayo de unión y la recaptura de serotonina en las plaquetas (**Maguire y col., 1993**), no mostró cambios significativos que relacionaran la edad o el sexo con la densidad de los sitios de recaptura (**Andersson y Marcusson, 1990**), sin embargo un estudio longitudinal en voluntarios sanos mostró una variación estacional asociada al género (**Klopphouwer y col., 1990**).

Recientemente se han clonado los genes del transportador de serotonina, y el análisis de su estructura ha confirmado que las secuencias de aminoácidos del transportador plaquetario y del cerebral son idénticas (**Lesch y col., 1993**). Este hallazgo ha definido un gen candidato para la investigación genética molecular del transportador serotoninérgico, y ha reforzado la validez del modelo plaquetario para el estudio de anomalías del transportador de serotonina en varias alteraciones psiquiátricas. Los mecanismos de regulación de la función del transportador de serotonina en las plaquetas han incluido a los mensajeros intracelulares acoplados a la proteína cinasa C, ya que la estimulación de la actividad de esta enzima por los ésteres de forbol y diacilglicerol producen una marcada inhibición de la recaptura de serotonina (**Chudzik y col., 1993**). Ésta es otra evidencia de que las plaquetas humanas tienen un receptor serotoninérgico funcional acoplado al sistema fosfatidilinositol cinasa C, y que las características farmacológicas de los receptores 5-HT₂ en plaquetas y neuronas son similares (**Wang y Friedman, 1990**).

Un incremento en la densidad de los receptores 5-HT₂ fue consistentemente encontrado en las plaquetas de pacientes con depresión mayor (**Arora y Meltzer, 1989**), lo cual también se encontró en cerebros de víctimas suicidas (**Hrdina y col., 1993**). La regulación positiva de los receptores serotoninérgicos es uno de los cambios más constantes en la depresión, y podría ser útil como marcador específico, particularmente en el subgrupo de pacientes deprimidos con riesgo suicida. Adicionalmente los receptores serotoninérgicos 5-HT₂ se han encontrado significativamente elevados en sujetos deprimidos (**Brosov y col., 1989**); sin embargo, estos hallazgos se deben tomar con precaución. La causa de la regulación hacia arriba de los receptores 5-HT₂ en la depresión no es conocida, y los factores involucrados en la regulación a largo término de esos receptores son posiblemente diferentes en el sistema celular de las plaquetas y en el complejo sistema de la red neuronal. Además, los receptores 5HT₂ han sido clonados (**Saltzman y col., 1991**), aunque no se sabe si los genes codificadores de los receptores son los mismos en el cerebro y en las plaquetas. Se requieren futuros estudios para establecer si los mecanismos moleculares que involucran a los receptores 5-HT₂ median la señal de

AM
ARCHIVO HISTÓRICO
DE INVESTIGACIÓN

transmisión de serotonina en las plaquetas y el cerebro son similares, y sí los hallazgos encontrados en las plaquetas pueden extrapolarse al cerebro.

En resumen, los estudios en plaquetas se basan en las similitudes que éstas tienen con las neuronas serotoninérgicas. Una de las características más comunes es que las plaquetas presentan en su superficie receptores 5-HT_{2A} similares a los de las neuronas serotoninérgicas (**Mc Bride y col., 1987; Geaney y col., 1984; Pandey y col., 1995a**), y utilizan fosfatidilinositol como mecanismo de transducción (**Pandey y col., 1995b**). También se ha comprobado que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} por la serotonina induce la agregación plaquetaria (**Alarayed y col., 1995; Vanag y col., 1992; Cerrito y col., 1993**) y un cambio morfológico de las mismas (**Brazell y col., 1991**). Algunos de los cambios intracelulares secundarios que median estas respuestas son el calcio intraplaquetario (**Erne y Pletscher, 1985**) y el incremento de fosfatidilinositol (**Pacheco y col., 1996; Mikuni y col., 1991**). La medición de esas respuestas tras estimular las plaquetas con serotonina es la base de las pruebas que intentan evaluar el funcionamiento de los receptores 5HT_{2A}.

La serotonina en la depresión

Especialmente en la depresión mayor con melancolía, el nivel basal de cortisol se encuentra frecuentemente aumentado, por lo que la prueba de supresión a dexametasona también está alterada (**Maes y col., 1995 a**). La elevación constante de cortisol mejora la síntesis proteica de la triptófano-pirrolasa hepática, por lo que se induce una disminución de las concentraciones de triptófano libre y total, lo cual es frecuentemente reportado en los pacientes deprimidos que muestran niveles elevados de cortisol basal. Por lo tanto, la captura de triptófano libre a través de la barrera hematoencefálica y la acumulación del precursor de serotonina a nivel central, así como la síntesis de serotonina, y su metabolismo hacia 5HIAA, también están disminuidos. La reducción de triptófano, serotonina, y 5HIAA, varía en diferentes áreas del cerebro; es menor en el cerebro medio en el cual la concentración de triptófano en sujetos sanos es alta, y se incrementa después de la aplicación oral o intravenosa de triptófano y con el ejercicio, como ha sido mostrado

en estudios con animales (**Strüdel y Weiker, 2001**). En la mayor parte de los pacientes deprimidos, el 5HIAA está disminuido en el líquido cefalorraquídeo, y en estudios post-mortem; en las neuronas serotoninérgicas del cerebro el triptófano, la serotonina, y el 5HIAA, están disminuidos. Después de la administración de antidepresivos, el nivel de triptófano plasmático y la captura del triptófano por la barrera hematoencefálica aumentan (**Van Praag, 1984**).

Los resultados de estos estudios no han sido siempre reproducibles, lo que podría explicarse parcialmente porque diversas formas de depresión pueden coexistir en los pacientes investigados, y porque la concentración basal de cortisol no siempre se midió. La causa de la elevación permanente de cortisol en la depresión no se ha entendido bien; sin embargo, el mejoramiento de la síntesis de holo- y apoenzimas seguido de un incremento de la actividad de la triptófano-pirrolasa hepática ha sido confirmado (**Strüdel y Weiker, 2001**). Consecuentemente, el triptófano en plasma y su paso a través de la barrera hematoencefálica también están reducidos, lo mismo que la concentración de los precursores de serotonina. El efecto de la serotonina sobre el eje hipotálamo-pituitaria adrenal puede contribuir a un estado de hipercortisolemia, en el cual parecen estar implicados la deficiencia de los receptores de cortisol Mr y Gr y de los receptores 5HT₂ hipotalámicos (**Maes y col., 1995a**).

El tratamiento de la depresión mayor con antidepresivos tricíclicos y no tricíclicos, particularmente la depresión mayor con melancolía, induce un incremento en la concentración de triptófano en el plasma que se acompaña de mejoría clínica medida con la escala de Hamilton. Este efecto puede ser atribuido parcialmente a la reducción de la triptófano pirrolasa en el hígado, debido a una saturación de la apoenzima con el cofactor hem por el antidepresivo; situación que ha sido confirmada experimentalmente en ratas (**Badawy y Evans, 1981; Badawy y Morgan, 1982; Chaouloff y col., 1985**). De esta forma, la eficiencia neuronal de los antidepresivos para regular la transmisión sináptica incide sobre otros sistemas de neurotransmisión y hormonas en el cerebro, favoreciendo el incremento del triptófano periférico y la recaptura de triptófano a través de la barrera hematoencefálica.

El beneficio del suplemento de triptófano oral o intravenoso (5-10gr por día) fue reportado por **Van Praag (1984)** quien encontró en los pacientes una mejoría aunque no significativa cuando se comparó con los pacientes tratados con placebo. Después de la administración de 5HTRP junto con un inhibidor de la descarboxilasa sí hubo una mejoría significativa cuando se valoraron los casos de depresión contra los pacientes tratados con placebo, y con otro grupo de pacientes tratados solamente con triptófano. Van Praag concluyó de estos resultados que la administración de 5HTRP en adición al inhibidor de la descarboxilasa fué superior a una interacción entre las catecolaminas y el sistema de neurotransmisión serotoninérgica. Aunque la inhibición inespecífica de la aromático-descarboxilasa previene la conversión a serotonina así como la conversión de DOPA a dopamina en el plasma, es un hecho que cuando ambos precursores que atraviesan la barrera hematoencefálica provocan un efecto sinérgico sobre los sistemas serotoninérgico y catecolaminérgico. La conclusión de Van Praag se confirma, dado que se encontró un incremento de los metabolitos de las catecolaminas (HVA y MHPG) en adición al incremento de los metabolitos de serotonina (5-HIAA) en LCR. Estos resultados se encontraron solo después de la aplicación de 5HTRP simultáneamente con el inhibidor de la descarboxilasa, pero no después de la administración de triptófano.

Por otro lado **Maes y col. (1995a)** encontraron que después de la administración de 5HTRP hubo una estimulación del eje HPA, lo que también indica una interacción serotoninérgico-adrenérgica, sin una activación primaria por triptófano-pirrolasa. **Delgado y col. (1990)** investigaron los efectos de la depleción rápida de triptófano en pacientes que habían tenido una remisión del estado depresivo inducida por fármacos antidepresivos. Ese grupo estudió 24 pacientes deprimidos que recibieron una dieta baja en triptófano en un estudio cruzado doble ciego con controles que recibieron placebo. Los niveles de triptófano total y libres disminuyeron en promedio alrededor de 86 y 81 % respectivamente, y 14 de los 24 pacientes que recibieron antidepresivos experimentaron una recaída en los síntomas depresivos después de la depleción de triptófano. Sin embargo, 24 a 48 horas después de que se cambió la dieta a una comida rica en triptófano, los pacientes volvieron a remitir en sus

síntomas depresivos; el grupo control no cambió significativamente su comportamiento. La concentración de triptófano libre en plasma de los pacientes deprimidos se correlacionó inversamente con el puntaje de la escala de depresión durante la depleción aguda de triptófano; los autores concluyeron que la eficiencia terapéutica de algunos antidepresivos podría depender de la disponibilidad de la serotonina central, conclusión que fue confirmada por **Owen y Nemerof (1994)**.

Russ y col. (1990) encontraron que la relación entre el triptófano libre y el triptófano total, comparada con la suma de los aminoácidos de cadena larga fue significativamente menor en 16 pacientes deprimidos, comparados con 9 sujetos sanos después de la administración oral de triptófano. Las diferencias de grupo y las tasas fueron correlacionadas en toma basal y dos semanas después del comienzo de tratamiento con antidepresivos tricíclicos.

La concentración de aminoácidos neutros de cadena larga y especialmente la concentración de los aminoácidos de cadena ramificada en plasma se encontraron aumentados en los sujetos depresivos con respecto a los sanos, debido a una metabolización muscular disminuida de los aminoácidos de cadena ramificada, por consiguiente, la entrada de triptófano desde la sangre a través de la barrera hematoencefálica al cerebro estuvo atenuada o disminuida, y la concentración central de triptófano, así como la biosíntesis de serotonina consecuente y la metabolización a 5-HIAA estuvieron disminuidas; detectados por el nivel disminuido de 5-HIAA en LCR (**Van Praag, 1984**).

Así, en estudios con pacientes deprimidos y en sujetos suicidas se han encontrado diversos hallazgos, tales como: una reducción de la concentración de serotonina y su principal metabolito el ácido 5-HIAA en tejido cerebral (**Arranz y col., 1997**), una disminución de la concentración de 5-HIAA en LCR (**Asberg y col., 1984**), y una disminución de la concentración de triptófano en el plasma (**Delgado, 1992**). **Franke y col. (2000)** realizaron un estudio en donde se relacionaron el contenido de serotonina plaquetaria y la recaptura de este neurotransmisor, en 47 pacientes con

depresión mayor que no habían tomado medicamento por varios meses, comparados contra 56 sujetos sanos. Aunque no se encontró una relación significativa entre el número de sitios de pegado (B_{max} aparente) o la constante de afinidad (K_m) y el contenido de plaquetas en ambos grupos; la relación B_{max} a K_m como medida de la eficiencia de recaptura aparente correlacionó significativamente con la concentración de serotonina plaquetaria en los sujetos sanos, manifestándose esta correlación más significativa, en las mujeres controles que en los hombres ($r = 0.723$ y $r = 0.457$ respectivamente). También se observó una desviación de la relación lineal entre el contenido de serotonina plaquetario y la razón B_{max}/K_m en mujeres deprimidas ($r = 0.0250$ n.s.), mientras que en los pacientes hombres deprimidos la ($r = 0.485$ $p < 0.05$) fue similar al de los hombres controles, pero la ecuación difirió significativamente en la pendiente y el intercepto.

Al estudiar la relación entre el colesterol sérico y la conducta suicida, **Almeida y col. (1999)** no encontraron correlación entre el colesterol y la conducta suicida, ni entre la severidad de la depresión y la ocurrencia de los episodios depresivos. Sin embargo, se encontró una disminución considerable de los niveles séricos de serotonina en pacientes deprimidos con intento suicida reciente, este hallazgo es consistente con los resultados de **Raucoules y col. (1991)**, **Maes y col. (1991)**, **Quintana (1992)**, **Mauri y col. (1998)**, y **Lucca y col. (1992)**. Dos estudios encontraron una relación entre la variación estacional de triptófano sérico y la presentación de la conducta suicida, violenta y homicida: **Maes y col. (1995b)** y **Tiihonen y col. (1997)**. En otro estudio hecho por **Spreux-Varquaux y col. (2001)**, se midieron los metabolitos de la serotonina (5-HIAA), y de la dopamina (el ácido homovanílico), y la concentración de serotonina plaquetaria, a los 3 días de un intento suicida violento comparándolos contra los mismos metabolitos de controles sanos. Encontraron que el 5HIAA y la serotonina plasmática tuvieron más baja concentración en los pacientes con intento suicida que en los controles, mientras que no hubo asociación del intento suicida con la concentración de HVA plasmático. Cuando estudiaron impulsividad, encontraron que la concentración de 5-HIAA estaba inversamente relacionada con el grado de impulsividad, y la serotonina plaquetaria con la intensidad de la depresión. En el

grupo de rasgo suicida impulsivo, el 5HIAA plasmático fue más bajo que en el grupo de pacientes con intento suicida no impulsivo, contrariamente, el nivel de serotonina plaquetaria fue significativamente más baja en los pacientes con intento suicida a comparación con los sujetos impulsivos y los controles. La concentración plasmática de HVA no se asoció con la conducta del paciente ni con el grupo de rasgo suicida no impulsivo. Los autores concluyeron que cada índice serotoninérgico periférico está específicamente relacionado con distintas características clínicas, muestra alteraciones diferentes de acuerdo al grupo, y que no hay paralelismo entre estas dos variables periféricas. Como puede observarse, en la actualidad aún se proponen más estudios prospectivos para investigar si los parámetros serotoninérgicos periféricos pueden usarse como predictores tempranos de conducta suicida violenta.

En resumen, los estudios en pacientes deprimidos y sujetos suicidas han encontrado hallazgos tales como una reducción de la concentración de serotonina y su principal metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético, en el tejido cerebral (**Arranz y col., 1997**), además de una disminución de la concentración de ácido 5-hidroxiindolacético en el líquido cefalorraquídeo (**Asberg y col., 1984**), y una disminución de la concentración de triptófano en el plasma (**Delgado y col., 1992**). Utilizado radioligandos se ha encontrado una disminución del número de los sitios de unión a las moléculas de recaptura de serotonina en pacientes depresivos y suicidas sin tratamiento (**Ellis y Salmond, 1994**). Además, se han descrito alteraciones en la respuesta hormonal a fármacos serotoninérgicos en pacientes depresivos (**Gómez Gil y col., 1996**), estas alteraciones se han interpretado como reflejo de una disfunción del sistema serotoninérgico de los sujetos con depresión.

Como puede notarse, aunque reduccionista, la hipótesis de la deficiencia monoaminérgica ha constituido durante años un paradigma para entender el mecanismo de acción y los planteamientos terapéuticos en el tratamiento con fármacos antidepresivos, y ha servido de estímulo para investigaciones más específicas en el campo. No obstante, la hipótesis monoaminérgica de la depresión, ha sido cuestionada por diversos motivos. Por una parte, por la ausencia de una

eficacia inmediata de los tratamientos antidepresivos, ya que estos tardan varias semanas en producir su efecto, a pesar de que el incremento de la concentración de monoaminas en la hendidura sináptica se produce en horas. Por otra parte, estudios en paralelo no han demostrado de manera consistente la deficiencia de serotonina, noradrenalina o sus metabolitos en LCR, sangre, u orina de pacientes depresivos, y la asocian principalmente con conductas suicidas (**Arranzy col., 1997; Asberg y col., 1976; Traskman-Bendz y col., 1993**). Debido a esto, las investigaciones sobre la hipótesis monoaminérgica se han desplazado del estudio del estado de los neurotransmisores, al estudio sobre el estado de sus receptores.

Estudios *post mortem* del transportador de captura de serotonina

El transportador de serotonina captura este neurotransmisor del espacio sináptico. El transportador está localizado en las membranas presinápticas de las células del núcleo del rafe, y en la proyección de las terminales serotoninérgicas hacia la corteza cerebral (**Cooper y col., 1996**). El desarrollo de las técnicas de unión de radioligandos permitió demostrar la existencia de receptores con alta afinidad a [³H]-imipramina en el cerebro humano (**Langer y col., 1981a,b; Rehavi y col., 1980**). Por su localización en las terminales serotoninérgicas y su posible implicación en la patología de la depresión, se planteó que estos receptores podrían ser marcadores específicos de depresión.

Se han reportado disminuciones en la unión de [³H]-imipramina en la corteza prefrontal de pacientes suicidas con historial clínico de depresión (**Crow y col., 1984**), así como en la corteza occipital y en el hipocampo de pacientes depresivos que murieron por causas naturales (**Perry y col., 1983**). Estos hallazgos han sido confirmados por Leake y col. (1991), utilizando [³H]-citalopram ([³H]-CTP), que es un radioligando más selectivo para el transportador de serotonina. Sin embargo, considerando que el suicidio correlaciona altamente con síntomas depresivos así como la participación de la 5-HT en la depresión, **Purselle y Nemeroff, (2003)** realizaron una revisión de 29 estudios de unión de radioligandos al transportador de serotonina en tejido de cerebro *post-mortem* de víctimas suicidas comparadas con

grupos controles. Encontraron resultados controvertidos ya que al usar [³H]-imipramina como radioligando, tres estudios refirieron un incremento de pegado al transportador, 14 reportaron un decremento al usar [³H]-imipramina, [³H]-paroxetina ó [³H]-CN-imipramina, y 12 no reportaron cambios en la unión al transportador de serotonina en víctimas de suicidio, usando [³H]-imipramina, [³H]-paroxetina, [³H]-CN-imipramina, ó [³I]-RTI-55. Es posible que los factores metodológicos propios del uso de muestras *post-mortem* generen esta discrepancia y compliquen la interpretación correcta de los resultados.

Disfunción del transportador de serotonina en la depresión

Sneddon (1972) refiere que existe un paralelismo entre los parámetros cinéticos del transportador serotoninérgico en las neuronas y en las plaquetas. La K_m para la recaptura de serotonina en el tejido nervioso es similar a la de la recaptura de serotonina en plaquetas, ambas con un valor aproximado de 10^{-7} M, aunque varían según la técnica experimental empleada, así como la composición del medio de incubación. Tanto en sinaptosomas como en plaquetas, el transporte de serotonina es dependiente de la concentración externa de Na^+ y estimulado por K^+ . Además del transporte activo, tanto en plaquetas como en tejido nervioso se acumula serotonina mediante un proceso de difusión pasiva; sin embargo, en ambos tejidos este proceso ha recibido poca atención pues es considerado de nula importancia fisiológica. El proceso pasivo se reduce a la captura de serotonina en altas concentraciones de sustrato en el medio, y no es afectado por drogas como clorpromazina y desmetilimipramina que bloquean el proceso del transporte activo (**Fuks, 1964**).

Con base en los estudios anteriores, **Shaw y col.(1967)** encontraron que la recaptura y liberación de serotonina eran normales en plaquetas de pacientes deprimidos. Sin embargo, **Tuomisto y cols.(1979)** encontraron que la recaptura de serotonina estaba disminuida en las plaquetas de pacientes deprimidos, y observaron que la B_{max} de recaptura serotoninérgica plaquetaria estaba muy reducida en los pacientes deprimidos mientras que la K_m fue normal.

Langer y col. (1981a, b) y **Paul y col.(1981)** encontraron disminuciones en los sitios de unión de [³H]-imipramina en plaquetas de pacientes deprimidos sin tratamiento. Este resultado ha sido uno de los más reproducibles en la biología de los trastornos afectivos (**Langer y Galzin, 1988, Ellis y Salmond, 1994**), y se ha sugerido como un indicador específico de la depresión mayor.

Owens y Nemeroff, (1994, 1998) mencionan que los pacientes con trastorno de pánico, manía, fibromialgia, enfermedad de Alzheimer y depresión atípica no mostraron ninguna alteración en la fijación de [³H]-imipramina en las plaquetas, mientras que sí se encontró en las plaquetas de pacientes deprimidos que no habían recibido tratamiento. Sin embargo, estos hallazgos no han sido del todo reproducibles (**Lawrence y col 1993, Bakish y col 1997**). Además en el estudio desarrollado por **Mellerup y Langer (1990)** no encontraron información confiable que mostrara que las medidas de la B_{max} del transportador de serotonina fuera una herramienta de diagnóstico válida, o que sirviera como un indicador en el tratamiento de los desordenes mentales, particularmente en la depresión. Al respecto, una revisión sobre los requerimientos metodológicos para la medición del transportador de serotonina ha sido publicada recientemente, con resultados que pueden ayudar a esclarecer las diferencias entre los diferentes estudios (**Jurado y col., 2003**).

Por otro lado, **Freeman y col. (1993)** encontraron una disminución de la fijación de 3H-imipramina a las plaquetas en pacientes deprimidos antes del inicio del tratamiento, mientras que la recuperación clínica se asoció con un incremento en el número de los sitios de unión a [³H]-imipramina. **Castroviovanni y col. (1995)** reportaron que aquellos pacientes con una densidad baja de los sitios de unión a [³H]-imipramina en plaquetas previa al tratamiento, tendían a responder mejor al tratamiento con fluoxetina que aquellos que tenían una densidad alta de los sitios de unión a [³H]-imipramina en plaquetas antes del tratamiento, por lo que sugirieron que los valores reducidos en la densidad del transportador serotoninérgico pudieran ser usado como un marcador de estado de la depresión (**Tollefson y cols., 1996; Owens y Nemeroff, 1998**).

Estudios recientes en los que se han usado ligandos más selectivos para este transportador, como la [³H]-paroxetina ó el [³H]-citalopram empleados en los estudios de unión ligando-transportador, encontraron una reducción en el número de sitios de unión en plaquetas de pacientes deprimidos libres de tratamiento, en comparación con sujetos controles sanos pareados por edad, confirmando los estudios previos (D'Hond y col., 1994, Bakish y cols., 1997; Owens y Nemeroff, 1998).

Es posible que los avances en la biología molecular permitan caracterizar los componentes que regulan la expresión del transportador de 5-HT en el cerebro y en las plaquetas, y se pueda determinar si el gen responsable de la síntesis del transportador serotoninérgico se encuentra estructuralmente alterado en los pacientes deprimidos, como lo sugieren Cuenca y col. (1996). Otras herramientas como la tomografía por emisión de positrones y la tomografía por emisión de fotón único podrán ayudar a dilucidar la especificidad de los hallazgos reportados, determinar las áreas anatómicas alteradas en la depresión, y predecir la respuesta al tratamiento (Malison y cols., 1998; Kugara y col., 2004).

Desde hace ya varias décadas, la hipótesis de la deficiencia sobre la etiopatogenia de la depresión ha sido desplazada por una teoría afín: la hipótesis de los cambios adaptativos de los receptores. Esta nueva hipótesis, en consonancia con la hipótesis de la deficiencia, sugiere que en la depresión, el agotamiento de los neurotransmisores monoaminérgicos inducirá una regulación compensatoria en el número y/o funcionalidad de sus receptores (Sulser y col., 1978; Charney y col., 1981; Heningey y Charney, 1987).

Las técnicas de investigación que se han utilizado para estudiar esta hipótesis se pueden clasificar en dos grupos:

1. Técnicas que evalúan densidad (Bmax) y afinidad (KD) de los receptores, que incluyen técnicas de fijación de radioligandos a receptores serotoninérgicos, tanto en el tejido cerebral de sujetos post-mortem, como en la superficie de las plaquetas de pacientes deprimidos.

2. Técnicas que evalúan funcionalidad o sensibilidad de los receptores, que incluyen pruebas neuroendócrinas y diversos estudios funcionales en plaquetas, que incluyen, técnicas de: agregación, de cambio de forma plaquetaria, de cuantificación del incremento de calcio intraplaquetario y cuantificación de segundos mensajeros, todas ellas tras la estimulación plaquetaria con serotonina. Las pruebas neuroendócrinas consisten en medir el incremento sanguíneo de hormonas hipofisarias en respuesta a la administración oral o parenteral de un fármaco serotoninérgico. Los subtipos de receptores a serotonina más estudiados en relación con la depresión son los 5HT_{1A} (pre- y postsinápticos) y los 5HT_{2A}.

Evidencias a favor de alteraciones de los receptores 5-HT_{1A} en la depresión

Mediante pruebas de fijación a receptores 5-HT_{1A} en la corteza frontal de cerebro de sujetos que han cometido suicidio, la mayoría de estudios con alguna excepción (**Cheetham y col., 1990**) no encontraron diferencias en la densidad de estos receptores (**Dillon y col., 1991; Arranz y col., 1994; Lowther y col., 1997; Matsubara y col., 1991**). Por otra parte, en un estudio de **Stockmeier y col. (1990)**, en el que se evalúa la densidad de estos receptores a nivel del encéfalo (donde se encuentran los receptores presinápticos 5-HT_{1A} del soma neuronal) encontraron un incremento de los receptores 5-HT_{1A} en víctimas de suicidio con depresión mayor (**Stockmeier y col., 1998**). Se puede concluir que, en conjunto, los estudios postmortem no apoyan la existencia de diferencias relevantes en la densidad de los receptores 5-HT_{1A} en la corteza cerebral de sujetos deprimidos, aunque sugieren un incremento de los receptores presinápticos a nivel de los núcleos del rafe.

Disfunción del autorreceptor 5HT_{1A} somatodendrítico en los trastornos depresivos

La disfunción de los autorreceptores 5HT_{1A} somatodendríticos presinápticos puede ocasionar alteraciones conductuales en las que la ansiedad es prominente, pero esta disfunción también se presenta en los pacientes deprimidos y en los alcohólicos (**Struder y Weiker 2001**). El tratamiento crónico con inhibidores selectivos de la recaptura produce una desensibilización de los autorreceptores 5HT_{1A} somatodendríticos (**Elhwuegi, 2004**).

Densidad y afinidad. Mediante pruebas de fijación a receptores 5-HT_{1A} en la corteza de cerebros de sujetos que se suicidaron, no se encontraron diferencias importantes en la densidad de estos receptores (Dillon, 1991; Arranz, 1994; **Gómez y col., 2001**).

Capacidad funcional. Las pruebas neuroendócrinas como respuesta a la administración de agonistas de los receptores 5-HT_{1A} tales como las azapirodecanedionas (buspirona, ipsapirona, genipirona, y tandospirona), se han utilizado como índice de la funcionalidad de estos receptores. Considerando el efecto de estos agonistas como un grupo, parece que todos tienen la capacidad de aumentar las concentraciones plasmáticas de prolactina, de hormona de crecimiento, de hormona adrenocorticotrópica, y de disminuir la temperatura. Se ha observado que tanto la respuesta de hipotermia secundaria a su acción sobre los receptores presinápticos 5-HT_{1A}, así como la respuesta neuroendócrina secundaria a la estimulación de los receptores postsinápticos 5-HT_{1A} del hipotálamo, se encuentran disminuidas en los pacientes deprimidos, lo que sugiere que los receptores pre y postsinápticos pudiesen encontrarse desensibilizados o hipofuncionales en los pacientes con depresión (**Gómez y col., 2001**).

Evidencias a favor de alteraciones de los receptores 5-HT_{2A} en la depresión

Mediante técnicas de fijación de radioligandos a receptores 5-HT_{2A} en tejido cerebral de víctimas de suicidio, varios estudios encontraron un incremento de la densidad de estos receptores en la corteza frontal (**Stanley y Mann, 1983; Mann y col., 1986; Ferrier y col., 1996; Arora y Meltzer, 1989; Yates y col., 1990; Arango y col., 1990; Hrdina y col., 1993**), además de una disminución en el hipocampo (**Rosel y col., 1998**). Aunque este incremento en la densidad de los receptores 5-HT_{2A} en la depresión ha sido uno de los hallazgos más ampliamente reproducido, aún persiste la controversia debido a que no todos los investigadores han encontrado diferencias (**Arranz y col., 1994; Owen y col., 1983**). Además, se ha planteado una asociación entre las mediciones serotoninérgicas y el riesgo suicida. Puesto que no todos los pacientes incluidos en los estudios previos padecían un trastorno depresivo identificado, es difícil dilucidar si estas alteraciones fuesen atribuibles a la depresión,

a la vulnerabilidad de la conducta suicida, o a los cambios provocados por el estrés asociado a esta conducta. En un estudio realizado por **Yates y col. (1990)**, destaca que el incremento de la densidad de los receptores 5-HT_{2A} en la corteza frontal se encontró solo en aquellos pacientes depresivos que no recibían tratamiento, pero no en los que se habían recuperado espontáneamente. Este estudio parece sugerir que la densidad de estos receptores disminuye al mejorar el cuadro clínico.

Los receptores 5-HT_{2A} plaquetarios en los pacientes deprimidos

Densidad y afinidad. Mediante técnicas de fijación de radioligandos a los receptores 5-HT_{2A} de la membrana plaquetaria, la mayoría de estudios en plaquetas de sujetos con depresión mayor o intento suicida han encontrado un incremento en la densidad de los sitios de unión a estos receptores (**Arora y Meltzer., 1989, Biegon y col., 1987, Biegon y col., 1990, Pandey y col., 1990, Hrdina y col., 1995, Bakish y col., 1997, y Serres y col., 1999; Sheline y col., 1995; Rao y col., 1998**). También se encontraron incrementos en la densidad de los receptores plaquetarios en sujetos con trastorno distímico (**Dun y col., 1996**) y en el síndrome de depresión estacional (**Stain-Malmgren y col., 1998**); sin embargo, en otros estudios no se encontraron diferencias (**Cowen y col.1987; McBride y col., 1994; Pandey y col., 1995; Bakish y col., 1997**). **Rosel y col., (1999)** reportaron un incremento discreto en la afinidad de la [³H]-ketanserina por los receptores plaquetarios 5-HT_{2A} de pacientes deprimidos, pero sin cambios en la densidad de estos receptores.

Capacidad funcional

Las pruebas neuroendócrinas han sido ampliamente utilizadas, sin embargo, aun no han sido totalmente evaluadas. Su uso es limitado debido a factores como la ausencia de agonistas y antagonistas específicos estereo-selectivos para los subtipos de receptores serotoninérgicos, o sus efectos sobre otros sistemas de neurotransmisión, o la influencia del estrés sobre el eje hipotálamo-hipofisario (**Gomez Gil y col., 1996**).

Otros aspectos metodológicos como: la heterogeneidad de la población estudiada, el limitado número de sujetos incluidos, el poco control de variables como edad, sexo, fase menstrual, dosis, dieta, así como el efecto placebo, también limitan la interpretación de los resultados de las pruebas neuroendócrinas. A pesar de esto las alteraciones más consistentes se han encontrado en las pruebas neuroendócrinas que actúan sobre las terminales presinápticas (L-triptófano, fenfluramina, y clomipramina). En contraste, la respuesta a la administración de agonistas 5-HT_{1A} y 5-HT_{2/1C} no es consistente. Estos datos sugieren que en los sujetos deprimidos existe una disfunción de la neurotransmisión serotoninérgica secundaria a la disminución de la liberación de 5-HT, más que a la alteración de la sensibilidad de los receptores serotoninérgicos postsinápticos (Cowen, 1993, Gomez Gil y col., 1996).

Los estudios funcionales en plaquetas refieren datos no menos contradictorios. Las pruebas de agregación de plaquetas de pacientes deprimidos en comparación con sujetos sanos, sugieren una disminución de la funcionalidad de los receptores 5-HT_{2A} (Buther y Leonard, 1988; McAdams y Leonard, 1992), aunque otros autores no encontraron diferencias (McBride y col., 1994; Wood y col., 1984). Los estudios basados en la estimulación de las plaquetas con 5-HT y la cuantificación posterior del cambio de la forma plaquetaria (Brusov, 1989), del incremento del calcio intraplaquetario (Mikuni y col., 1992; Yamawaki y col., 1996; Delisi y col., 1998, 1999; Berk y col., 1998), o de la hidrólisis del fosfoinositol (Mikuni y col., 1991), respuestas que están mediadas por los receptores 5-HT_{2A}, sugieren un incremento de la funcionalidad o una hipersensibilidad de estos receptores en pacientes con depresión en comparación con los controles (Gómez y col., 2001). Respecto al comportamiento de los receptores con el tratamiento, se esperaría que la terapia antidepresiva corrigiera la disfunción del sistema serotoninérgico, dando lugar a la disminución de los receptores serotoninérgicos. En relación con esto, Meyer y col. (2001) reportaron que pacientes deprimidos libres de tratamiento a los cuales se les administró paroxetina durante seis semanas, mostraron una regulación a la baja de los receptores 5-HT_{2A}, medidos por medio de tomografía por emisión de positrones (PET), pero solo en la región cortical de sujetos depresivos jóvenes (entre 20 y 30

años de edad), y sin efectos en la densidad de esos receptores en pacientes de mayor edad (entre 30 y 40 años), por lo que concluyeron que la regulación a la baja de los receptores 5-HT_{2A} se atenúa con la edad. En contraste, **Zanardi y col. (2001)** reportaron que pacientes con depresión mayor y de edad promedio de 42 años, los cuales fueron medicados con paroxetina por cuatro semanas y respondieron a este tratamiento, mostraron una unión mayor al receptor 5-HT_{2A} en la corteza frontal (medido por medio de PET), en comparación con aquellos pacientes que no respondieron a la terapia. Estos resultados no son congruentes con lo reportado por **Meyer y col., (2001)**, aún cuando ambos grupos de investigadores usaron el mismo tipo de tomografía y los mismos radioligandos para medir la densidad de los receptores 5-HT_{2A} en personas con depresión, y habían recibido tratamiento con el mismo fármaco. Es posible que la edad sea un factor importante de considerar.

A pesar de los numerosos trabajos publicados, aún existen controversias entre los resultados de los distintos investigadores, tanto en los niveles de serotonina, como en la densidad y afinidad de transportador, y de los receptores membranales.

Posibles causas de las controversias de los resultados de los estudios del sistema serotoninérgico en la depresión

1. El uso de técnicas indirectas, dadas las dificultades inherentes a la investigación del SNC en sujetos vivos.
2. La dudosa identificación clínica del padecimiento
3. Las variaciones fisiológicas propias de la serotonina y de su transportador o receptores (sexo, periodo menstrual, variación circádica o estacional) (**Sarrias y col., 1989; Hinberg y Naesh, 1992; Spigset y col., 1998**).
4. Diferentes métodos de cuantificación y detección de la serotonina y sus metabolitos (**Picard y col., 1985**).
5. Falta de la estandarización óptima en los estudios de unión (**Jurado y col, 2003**).

Desde el punto de vista analítico, las diferentes formas de preparación de las muestras (anticoagulante empleado, tiempo y velocidad de centrifugación), el tipo de muestras empleadas (plasma, plasma rico en plaquetas, plasma pobre en plaquetas, plasma libre de plaquetas, suero o sangre total) así como, el método de detección empleado para la cuantificación de serotonina, presentan una variedad de problemas que contribuyen a la controversia de los resultados.

En la tabla 1 se presentan los estudios realizados en diferentes matrices biológicas y los diferentes procedimientos de detección utilizados, que muestran las diferencias de resultados. Como se observa, se han aplicado diferentes métodos para la cuantificación de serotonina en fluidos biológicos que incluyen: técnicas fluorométricas, cromatografía de gases, radioinmunoanálisis y cromatografía de líquidos de alta presión con diferentes tipos de detección (electroquímico, amperométrico, y fluorométrico). Algunos de estos métodos son de bajas sensibilidad y especificidad, mientras que otros son muy costosos para ser de rutina en los laboratorios clínicos, y se carece de una estandarización entre las diferentes matrices biológicas para la preparación de la muestra, por ejemplo: plasma pobre en plaquetas (PPP), plasma rico en plaquetas (PRP), suero, sangre total, la velocidad de la centrifugación, la forma de expresión de la serotonina intraplaquetaria como ng/ml o ng/10⁹ plaquetas, y el tipo de anticoagulante empleado.

Tabla 1. Concentración de serotonina intra- y extraplaquetaria reportada en varios estudios

Autor (año)	Técnica	Suero (ng/ml)	PPP (ng/ml)	PRP (ng/10 ⁹ plaq)	PLP (ng/ml)	Sangre (ng/ml)
Crawford (1963)	Fluorometría		6-19			
Kellum y col. (1976)	RIA		6-15	300-380		
Frattini y Cucchi (1979)	Fluorometría		5-12	295-659		
Parbtani y Cameron(1979)	Fluorometría		80	150-450		
Koch y Kissinger(1980)	HPLC-ED	67-77	3-3.6			
Hussain y Sole (1981)	Radioenzimati co		3.9			
Vattasery y col. (1985)	Fluorometría			670		
Shuttelworth y Rien (1981)	Fluorometría			716-755		
Engbaek y Volbby (1982)	RIA	66-158	0.8-2.4			
Tagary y col. (1984)	HPLC-ED		9.1			
Picard y col. (1985)	HPLC-ED		2.0-3.33	539-711		
Artigas y col. (1985)	HPLC-FLU		1.7-3.5			
Anderson y col. (1986)	HPLC-FLU		0.30-0.85		0.16-0.6	78-102
Guicheney (1988)	HPLC-ED	112-638		477-805		
Ortiz y col (1988)	HPLC-ED		0.26-1.6	392-390		32-437
Flachaire y col. (1990)	HPLC-ED			518-824		
Sarrias (1990)	HPLC/ED		0.11-7.98			72-301
Sarrias y col. (1991)	HPLC-FLU				1.62-2.62	
Hindberg y Naesh (1992)	RIA		0-1.936			
Quintana(1992)	Fluorometría			2270		
Pussard y col. (1996)	HPLC-AMP		1.8-3.2	387-852		118-416
Spreux-Varoquaux y col. (1996)	HPLC-COUL		1.06-8.8			
Franke y col. (2000)	HPLC-ED			395-681		
Spreux-Varoquaux y col. (2001)	HPLC-COUL			144-549		

PPP = plasma pobre en plaquetas, PRP = plasma rico en plaquetas, PLP = plasma libre de plaquetas. RIA = radioinmunoensayo, HPLC = cromatografía de líquidos de alta presión, HPLC-ED = cromatografía de líquidos con detección electroquímica, HPLC-FLU = cromatografía con detección fluorométrica, HPLC-AMP = cromatografía de líquidos con detección amperométrica.

Los ensayos de unión, como puede observarse en la tabla 2, son más recientes y difieren tanto la concentración de proteínas, el tiempo, la temperatura de incubación, así como la concentración de [³H]-paroxetina que se usa en los estudios de unión de [³H]-paroxetina al transportador plaquetario, lo que trae como consecuencia una gran variabilidad en las constantes cinéticas (Kd y Bmax).

Tabla 2. Estudios reportados en la literatura sobre los valores de densidad y afinidad del transportador de serotonina usando [³H]-paroxetina

Autor (año)	Proteína (µg/ml)	Tiempo incubación	Temp. incubación	[³ H]-paroxetina (nM)	Bmax fmol/mg prot	Kd (nM)
Coccaro y col. (1996)	20	20 min	37 °C	0,05-1,0	1025	0.3
Malmgren y col. (1998)	21-39	2 h	22 °C	0,035-1,8	978	0.2
Sheline y col. (1995)	20	20 min	37 °C	0,05-1,0	1175	0.2
Mellerup y col. (1983)	50	-	-	0,04-0,6	-	-
Lawrence y col. (1993)	50-75	1,5 h	22 °C	0,01-0,5	972	34
Nankai y col. (1998)	50	-	-	-	568	0.1
Marazziti y col. (1998)	50-100	1 h	22 °C	0,01-1,0	1534	0.1
Plenge y Mellerup (1985)	100	2 h	20 °C	-	-	-
Cook y col. (1993)	100-150	2 h	22 °C	0,01-1,0	832	0.1
Bakish y col. (1997)	100	2 h	22 °C	0,05-1,6	714	0.1
Hrdina y col. (1995)	100	2 h	22 °C	-	667	0.1
Verkes y col. (1997)	20	2 h	22 °C	0,03-1,5	1800	1.2
Klompenerhouwer y col. (1990)	20	2 h	22 °C	0,03-1,5	1500	0.1

B max = densidad del receptor calculada; Kd = constante de afinidad, Temperatura de incubación = temperatura de incubación para el ensayo de unión, Tiempo de incubación = tiempo de incubación para el ensayo de unión; [³H]-paroxetina = concentración del radioligando en el medio de incubación.

JUSTIFICACIÓN

Pese a la creciente prevalencia de la depresión en todo el mundo incluyendo la población Mexicana, pocos estudios se han realizado en hombres y mujeres mexicanos que definan las condiciones bioquímicas que la depresión puede tener en nuestra población.

Por un lado no existe ningún estudio que se haya enfocado a establecer si los cambios climáticos que se observan en la ciudad de México a lo largo del año pueden influir en los niveles de serotonina y triptófano de sujetos sanos. Y se ha asumido que esto sucede únicamente en los países nórdicos en donde las variaciones climáticas son muy agudas.

Además diversas publicaciones señalan que las variaciones estacionales sobre las concentraciones de serotonina y triptófano pueden ser un factor que tenga que ver con la inconsistencia en la reproducibilidad de los resultados reportados cuando se realizan estudios clínicos. Esta es la razón por la que en la primera fase del proyecto se propusiera el estudio sobre la variación circanual de la serotonina y triptófano en voluntarios sanos.

Por otro lado, hasta esta fecha no se ha evaluado en nuestra población la utilidad de las concentraciones de serotonina y triptófano como marcadores biológicos periféricos de la depresión y/o de respuesta al tratamiento.

Debido a que los aspectos metodológicos son una probable causa de discrepancia entre los resultados reportados por diversos autores, todos los métodos que se emplearon en los trabajos de esta tesis fueron cuidadosamente revisados y publicados (Jurado y col, 2003). Hasta que las metodologías estuvieron cuidadosamente revisadas y ya caracterizadas las variaciones de serotonina y su precursor triptófano en las preparaciones sanguíneas a lo largo de un año, se procedió a realizar el primer estudio clínico en pacientes deprimidos mexicanos para medir las concentraciones de estos metabolitos en el sistema sanguíneo y plaquetario evaluando su posible utilidad como marcador biológico periférico de la depresión.

ESTUDIO 1. VARIACIONES MENSUALES DEL SISTEMA SEROTONINERGICO EN SUJETOS SANOS

OBJETIVOS

Determinar las variaciones mensuales de las concentraciones de serotonina y triptófano en las diferentes preparaciones sanguíneas (sangre, suero, plasma, y plaquetas) en sujetos sanos, con el objeto de estudiar la posible influencia de la estacionalidad en estas concentraciones. Al mismo tiempo, este estudio permitirá determinar cuales de las preparaciones sanguíneas resulta de utilidad para los estudios clínicos que se realicen en los pacientes deprimidos.

HIPÓTESIS

Hi. Existen variaciones mensuales en la concentración de serotonina y triptófano en las preparaciones sanguíneas (sangre total, plasma rico en plaquetas, plasma libre de plaquetas y suero).

Ho. No existen variaciones mensuales en la concentración de serotonina y triptófano en las preparaciones sanguíneas (sangre total, plasma rico en plaquetas, plasma libre de plaquetas y suero).

MATERIAL Y METODOS

Sujetos participantes

El estudio se realizó en 18 varones voluntarios sanos, que tuvieron una media de edad de 35 años (rango 26 - 43 años), y un promedio de peso de 73.8 kg (rango de 56 a 85 kg).

Características demográficas

Todos los participantes tuvieron un nivel educacional de por lo menos 9 años de escolaridad, y fueron de clase socioeconómica media. Los participantes tuvieron hábitos alimenticios similares (trabajadores del IMP que consumían sus alimentos en el comedor del instituto), y estuvieron sin ningún tratamiento farmacológico al menos

una semana antes de la toma de cada muestra mensual. Todos residían en la ciudad de México ((latitud 19° 24" norte), donde la luz disminuye de 14 horas a 10 horas en invierno (variación de 40 %). Además de constatar su salud clínica, se realizó una entrevista estructurada (**Heinze, 2000**) para confirmar ausencia de alteración mental.

Procedimiento

A todos se les realizó la toma de muestra de sangre entre las 8 y 9 A.M., en ayunas. Se realizó la preparación de las siguientes fracciones sanguíneas: sangre, suero, plasma rico en plaquetas (PRP) y de plasma libre de plaquetas (PLP) de acuerdo con el método de **Sarrias y col. (1987)**. Brevemente, se obtuvieron 20 ml de sangre de cada sujeto en 2 tubos de plástico: en el primer tubo, se colectaron 5 ml de sangre sin anticoagulante, se centrifugó a 3000 x g para obtener la fracción de suero, que se guardó en microtubos a -70 ° C hasta su análisis cromatográfico. Los 15 ml de sangre restantes se colectaron en otro tubo que contenía 275 µl de K₃EDTA al 10% como anticoagulante, el tubo se agitó suavemente, y se tomó una alícuota de 1 ml de sangre en un tubo de microcentrífuga que se almacenó a -70° C hasta su análisis. La sangre restante se centrifugó a 170 x g durante 15 minutos para obtener el PRP, del cual se tomó una alícuota de 600 µl y se almacenó a -80° C; el PRP restante se transfirió a otro tubo que se centrifugó a 1000 x g durante 15 minutos, el sobrenadante (plasma pobre en plaquetas, PPP) se transfirió a otro tubo y se centrifugó a 1000 x g por 30 minutos para obtener el PLP, que se guardó a -70° C.

Preparación de la muestra para el análisis cromatográfico

Las muestras fueron preparadas para el análisis cromatográfico HPLC de acuerdo con el método de **Anderson et al., (1987)**. En un tubo de microcentrífuga se colocaron 250 µl de muestra y 50 µl de ácido ascórbico al 25 %, el tubo fue agitado suavemente en el vórtex y se le adicionaron 50 µl de ácido perclórico 3.4 M, el tubo se agitó vigorosamente durante 1 minuto y la mezcla se dejó reposar 10 minutos a 4° C. Posteriormente el tubo se centrifugó a 6,000 rpm por 5 minutos, el sobrenadante se filtró a través de una membrana porosa de 0.45 µm y una alícuota de 50 µl se inyectó al cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (HPLC).

Sistema cromatográfico

El equipo de cromatografía HPLC consistió de una bomba 510 Waters (Milford, MA, U.S.A), un automuestreador Waters 710 WISP, un guardacolumna Waters empacado con inserto Nova-pak C₁₈, una columna Nova-pak (150 X 3.9 mm I.D.) de acero inoxidable. Un detector de fluorescencia Waters 470. La longitud de onda de excitación fue de 278 nm y de emisión de 335nm. El análisis se realizó de forma isocrática a 1.00 ml/min. La fase móvil se filtró a través de un filtro de 0.22 µm. Se usó un programa de ganancia de 0-6 min con una ganancia X 1 y de 6-13 min con una ganancia X 100. El tiempo de retención fue de 5 minutos para triptófano y 7.84 minutos para serotonina. El coeficiente de variación intraensayo del método fue de 1.77% para triptófano (n = 20, 8.55 µg/ml) y 5.30% para serotonina (n = 20, 40.65 ng/ml). El coeficiente de variación Inter-ensayo fue de 3.08 % para triptófano (n = 5, 8.98 µg/ml) y 5.24 % para serotonina (n = 4, 43.75 ng/ml). La fase móvil consistió de ácido cítrico 12.16 mM, fosfato dibásico de amonio 11.60 mM, octilsulfonato de sodio 2.54 mM, fosfato de dibutilamina 3.32 mM y Na₂EDTA 1.11 mM, pH 3.7 y acetonitrilo en una proporción (95/5) preparada según **Lee Chin (1990)**.

Condiciones ambientales

Para estudiar la relación entre las condiciones ambientales y las variables serotoninérgicas, se obtuvieron los datos de las condiciones climáticas del centro meteorológico de la ciudad de México, de los días en que fueron tomadas las muestras de cada sujeto (lluvia, humedad relativa, temperatura máxima y mínima, así como las horas de luz de los días).

Análisis estadístico

Los datos se normalizaron según el procedimiento descrito por **Sarrías y col. (1989)**, Los valores de las mediciones mensuales fueron referidos al promedio anual, es decir, la media anual de los datos normalizados para cada sujeto es igual a uno. Se procedió a comparar la media de cada mes con la de todos los demás para cada parámetro por medio de *t* de Student para grupos independientes. Aunque esta estrategia de análisis es menos potente estadísticamente que si se utilizara *t* de

Student para datos correlacionados, el procedimiento seleccionado reduce la probabilidad de cometer el error tipo I. Para controlar el efecto de contrastes múltiples se utilizó la corrección de Bonferroni, (α/n), con $\alpha = 0.05$ y 60 repeticiones, con un nivel de significancia corregido en 0.0008 (**Bonferroni, 1935**).

Análisis de ritmicidad

Los datos de triptófano Y serotonina de cada preparación sanguínea, fueron analizados con el método de cosinor utilizando el programa DISPAC, para explorar la probabilidad de que hubiese un ritmo anual definido en cualquiera de estas variables.

RESULTADOS

Triptófano

Las concentraciones de triptófano mostraron un perfil de pequeñas variaciones mensuales que fueron similares en suero, plasma libre de plaquetas y plasma rico en plaquetas, así como en sangre (Figura 1a). El promedio de concentraciones medias de triptófano en plasma libre de plaquetas (PLP) varió a lo largo del año en un rango de 8.91 ± 0.39 en mayo a 10.88 ± 0.62 $\mu\text{g/ml}$ en noviembre ($t(29) = 3.228$; $p < 0.005$). En el plasma rico en plaquetas (PRP) el promedio de concentraciones de triptófano varió en el rango de 9.31 ± 0.41 $\mu\text{g/ml}$ en marzo, 9.33 ± 0.51 $\mu\text{g/ml}$ en mayo a 11.09 ± 0.58 $\mu\text{g/ml}$ en noviembre. Los valores estadísticamente significativos fueron entre los meses de marzo y noviembre ($t [29] = 4.805$; $P < 0.0001$) y entre los meses de mayo y noviembre ($T(29) = 3.97$; $p < 0.001$); en el suero las concentraciones variaron de 10.38 $\mu\text{g/ml}$ en mayo a 12.23 $\mu\text{g/ml}$ en noviembre ($t [27] = 4.089$; $P < 0.001$), mientras que en sangre variaron de 5.55 $\mu\text{g/ml}$ en mayo a 6.06 $\mu\text{g/ml}$ en noviembre, sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($t(29) = 4.329$; $p < 0.01$) . Con los valores normalizados (Figura 1b) el perfil de variaciones del triptófano fueron muy similares en las preparaciones sanguíneas estudiadas.

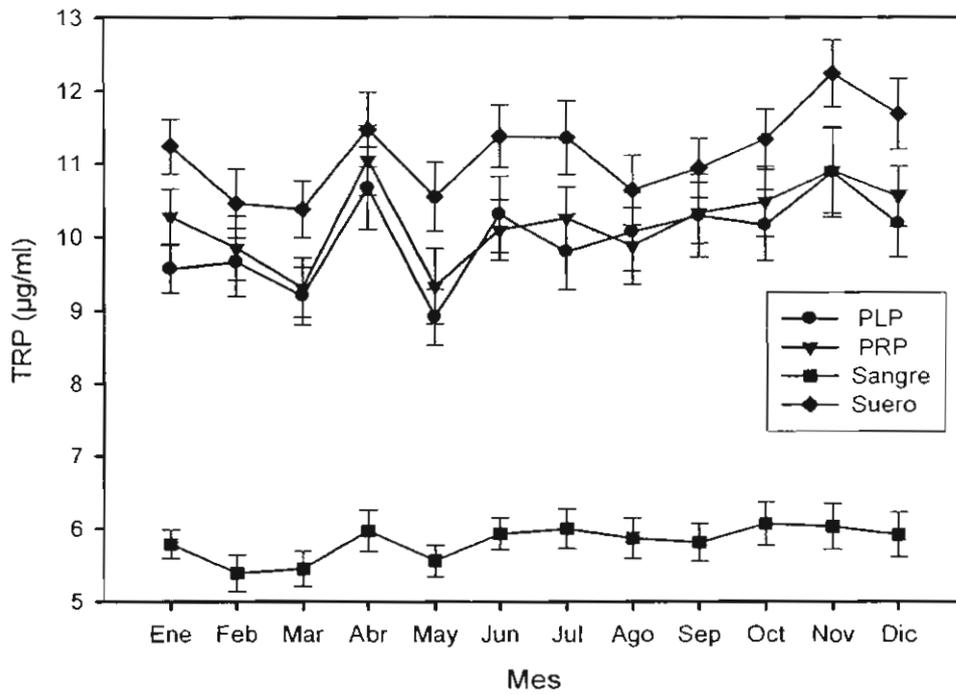


Figura 1a. Variación mensual de los niveles de triptófano en las diferentes preparaciones sanguíneas. Los datos representan promedio \pm EE.

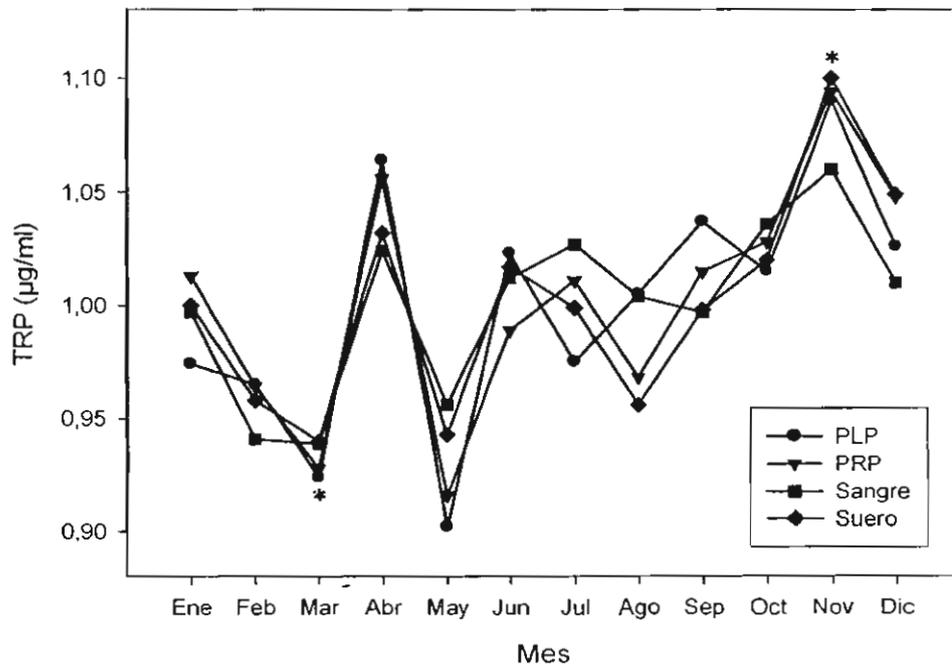


Figura 1b. Valores mensuales normalizados de los niveles de triptófano en las diferentes preparaciones sanguíneas. Los datos representan promedios. * $P < 0.0008$

Serotonina

En la figura 2a se muestran los niveles de serotonina de los 12 meses del año. Como puede observarse, los perfiles de variaciones en las diferentes preparaciones sanguíneas no fueron similares entre sí. Esta situación se confirma en los datos normalizados (Figura 2b).

En plasma libre de plaquetas (PLP) las concentraciones mínimas promedio fueron de 2.085 ± 0.44 ng/ml en mayo, y la concentración pico fue de 7.23 ± 0.71 ng/ml en junio, ($t [29] = 5.589$; $P < 0.001$). En plasma rico en plaquetas, la concentración valle fue 90.5 ± 12.5 ng/ml en mayo, y la concentración pico fue en enero; 200.9 ± 13.5 ng/ml ($t [29] = 5.038$; $P < 0.00001$). En sangre las concentraciones mínimas se encontraron en febrero 102.7 ± 8.4 ng/ml, en marzo 101.6 ± 8.9 ng/ml, en abril 102.5 ± 7.8 ng/ml, en noviembre 93 ± 8.7 ng/ml, y en diciembre 105.5 ± 9.5 ng/ml, mientras que las concentraciones pico fueron en mayo 123.49 ± 8.48 ng/ml, en agosto 121.21 ± 8.3 ng/ml, y en octubre; 120 ± 7.9 ng/ml, Los valores estadísticamente significativos fueron entre los meses de marzo y mayo ($t [33]=4,299$; $P < 0.0001$). En el suero, las concentraciones mínimas de serotonina se encontraron en junio 90.37 ± 12 ng/ml y noviembre 86.00 ± 6.11 ng/ml, y las concentraciones pico se encontraron en diciembre $136,52 \pm 10.7$ ng/ml. No se encontró significancia entre los meses de junio y diciembre ($t [32]=3.453$; $p < 0.0016$), ni entre los meses de noviembre y diciembre ($t [30]=2.988$; $p < 0.0058$)

Correlación con condiciones climáticas

En relación entre los niveles de triptófano y serotonina y las condiciones climáticas la prueba de correlación de Pearson muestra que solo las concentraciones de serotonina en plasma rico en plaquetas (PRP) correlacionan con el fotoperiodo ($t[194]= -0.294$; $P < 0.0001$)A, es decir, bajos niveles de serotonina correlacionan con los días de más luz.

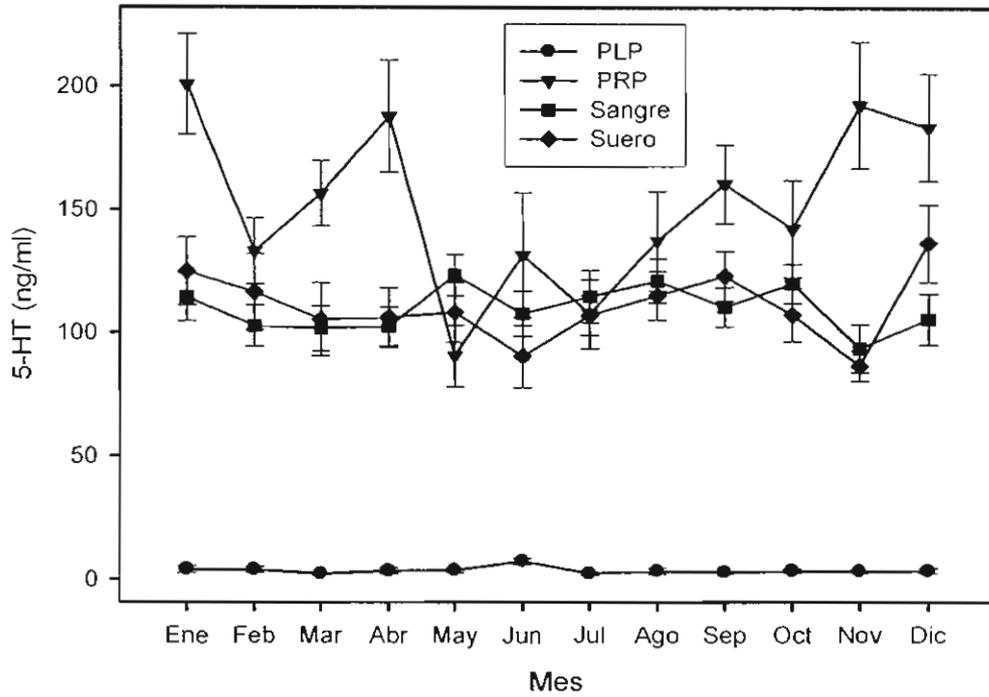


Figura 2a. Variación mensual de los niveles de serotonina en las diferentes preparaciones sanguíneas. Los datos representan promedio \pm EEM.

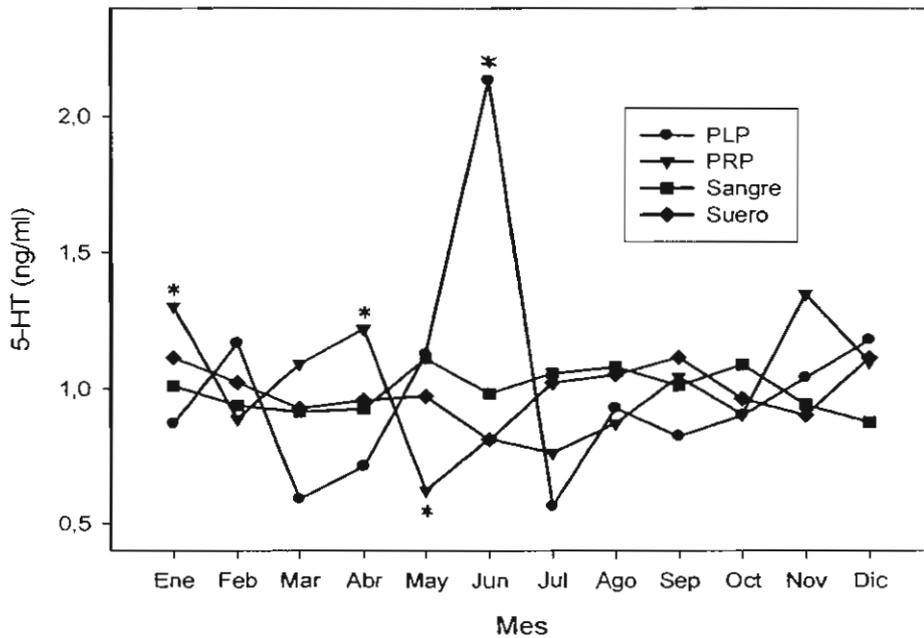


Figura 2b. Valores mensuales normalizados de los niveles de serotonina en las diferentes preparaciones sanguíneas. Los datos representan promedios. * $P < 0.0008$

El análisis cosinor de las concentraciones de serotonina en plasma rico en plaquetas muestra la posible existencia de un ritmo circanual con un porcentaje de ritmicidad de 51 % (Tabla 3). A diferencias de las concentraciones plasmáticas de serotonina que muestran un porcentaje de ritmicidad de 15.1 % el cual no tubo significancia ($p < 0.1$). Las concentraciones de triptófano en plaquetas y plasma no presentaron ninguna posibilidad de ritmo anual (21.3 y 4.6 %, respectivamente), y carecieron de significancia ($p < 0.1$ en ambas).

Tabla 3. Parámetros cronobiológicos del ritmo anual de las concentraciones de serotonina y triptófano en plaquetas y plasma de sujetos sanos.

Grupo	Periodo (meses)	Mesor (pg/ml)	Amplitud (pg/ml)	Acrofase (deg)	Coseno	Porcentaje*
Serotonina plaquetas	11.999	152.464	32.81	- 9.327 °	$p < 0.05$	51.0
Triptófano plaquetas	11.999	10.194	0.339	-319.44 °	$p < 0.1$	21.3
Triptófano plasma	11.999	10.765	0.353	-162.03 °	$p < 0.1$	4.6
Serotonina plasma	11.999	110.577	7.385	-3.128 °	$p < 0.1$	15.1

*Porcentaje de ritmicidad (proporción de la varianza circanual que ajusta con el modelo). Coseno, valor de p de la prueba de cero amplitud. Acrofase, $360^\circ =$ un año.

DISCUSIÓN

Este trabajo muestra que:

1. Hay variaciones mensuales en los niveles de serotonina y triptófano en sujetos sanos.
2. Las variaciones mensuales de las concentraciones de triptófano mostraron un perfil similar en las preparaciones sanguíneas estudiadas.
3. Las variaciones mensuales de las concentraciones de serotonina tuvieron perfiles diferentes en las preparaciones estudiadas.
4. El perfil de las variaciones mensuales de serotonina en PRP correlacionó con el fotoperiodo de manera que bajas concentraciones de serotonina en plaquetas correlacionaron con los días con intervalo de luz más largos.
5. Existe la posibilidad de que la serotonina plaquetaria tenga un ritmo anual.

Los datos muestran que las concentraciones más bajas de triptófano se encuentran en marzo y mayo (primavera) e incrementan en el mes de noviembre (otoño). La mayor diferencia estadísticamente significativa se encuentra en la preparación de plasma rico en plaquetas entre los meses de marzo y noviembre ($t [29] = 4.805$; $P < 0.00003$). Sin embargo al realizar el análisis cosinor solo se observó una tendencia a un ritmo sin que la significancia fuera estadísticamente significativa ($p < 0.1$) sugiriendo que los cambios en los niveles de triptófano no cambian fuertemente con las estaciones. Las concentraciones de triptófano encontradas concuerdan con las reportadas por Swade and Copen, 1980 (11.73 y 12.06 $\mu\text{g/ml}$), Sarrias et al., 1989 (9.00 y 12.43 $\mu\text{g/ml}$) en el plasma.

Los perfiles de variaciones en las concentraciones de triptófano en plasma de los sujetos sanos de nuestro estudio, fueron similares al reportado por **Maes y col. (1995b)**, quienes encontraron valores bajos en marzo y mayo, y valores altos en junio, agosto, y en los meses de noviembre a enero. Por el contrario **Wirz-Justice y col. (1979)** reportan un perfil caracterizado por altas concentraciones plasmáticas de triptófano en junio y diciembre y bajos niveles de septiembre a noviembre. También **Sarrias y col. (1989)** reportan valores bajos de triptófano plasmático en octubre y noviembre, y valores altos en diciembre, mayo y agosto.

En este trabajo no se encontró correlación entre los niveles plasmáticos de triptófano y las variables climáticas, en contraste con **Maes y col. (1995b)** y su grupo quienes encontraron una relación entre bajas temperaturas y humedad y los perfiles mensuales de los niveles de triptófano de sujetos sanos. También encontró una relación positiva entre las variaciones mensuales de triptófano y la ocurrencia de suicidios en Bélgica, país localizado a 51.2° latitud norte, donde se presentan temperaturas bajas en contraste a las que se presentan en la Ciudad de México.

A diferencia del triptófano, los promedios mensuales de la concentración de serotonina de las diferentes fracciones sanguíneas, no tuvieron perfiles de variaciones similares entre sí. El perfil de variación mensual de la concentración de

serotonina en sangre total y en el suero, fue diferente del perfil de variación de la concentración de serotonina en plasma rico en plaquetas (PRP), y al de serotonina plasmática (PLP). Como puede observarse en la figura 2 (a y b), los valores de serotonina en sangre total y suero no tuvieron variaciones significativas en el año. La serotonina plasmática (PLP) mostró un solo valor máximo en el mes de Junio, el cual fue significativamente diferente de los valores registrados el resto del año ($t [29]=5.589$; $p<0.0008$).

El perfil de variaciones de serotonina en PRP mostró valores bajos en mayo, una tendencia al incremento de noviembre a enero (otoño a invierno), y valores altos en marzo y abril (primavera). Las variaciones de esta preparación fueron estadísticamente significativas, y el análisis cosinor mostró la alta probabilidad de que los niveles de serotonina en plaquetas (PRP) tuvieran un ritmo circanual.

Wirz-Justice y Richter (1979) encontraron resultados similares, pues observaron valores de serotonina plaquetaria altos en primavera, bajos en verano, tendencia al incremento de otoño a invierno, y un pico en diciembre. Por el contrario, **Sarrias y col. (1989)** reportaron valores máximos en primavera-verano y mínimos en febrero y noviembre.

Respecto a la correlación entre las variaciones mensuales de los niveles de serotonina y las condiciones climáticas la única correlación encontrada en este estudio fue entre los niveles de serotonina en plaquetas (PRP) y el fotoperíodo, **Sarrias y col., (1989)** encontraron que la serotonina en sangre total correlacionó significativamente con el fotoperíodo, pero no con la temperatura ambiente. El hecho de que no se encuentre ninguna correlación entre las variaciones ambientales y las variaciones mensuales de serotonina plaquetaria, sugieren fuertemente que estas variaciones pudiesen tener un mecanismo endógeno similar al de los ritmos circadianos (**Aguilar-Roblero y col., 1997; Gruart y col., 2002**) será necesario realizar futuros estudios para explicar esta posibilidad.

Por otro lado, la similitud de las variaciones de triptófano entre las diferentes fracciones sanguíneas, sugiere que el triptófano conforma un solo compartimiento, o que se distribuye en compartimientos intercambiables entre sí. Sin embargo, los diferentes perfiles en las variaciones de serotonina de las fracciones sanguíneas estudiadas, sugieren que la serotonina se encuentra confinada en compartimientos altamente definidos, y su intercambio entre compartimientos se encuentre regulado. Esto a su vez sugiere que cada compartimiento de serotonina tenga diferentes metabolismos y funciones biológicas (**Lechin y col., 1998**).

Resulta interesante que el único compartimiento de serotonina que mostró altas probabilidades de tener ritmicidad ($p < 0.005$) fue el de la fracción plaquetaria mismo que correlacionó con el fotoperíodo y aunque las variaciones estacionales en México no son extremas como en los países nórdicos, el contenido de serotonina plaquetaria muestra un perfil de variación circanual.

Por otra parte dado que la acción de la serotonina en las plaquetas parece tener similitud con algunas acciones a nivel cerebral, no es difícil que el ritmo anual de la concentración de serotonina en las plaquetas refleje una ritmicidad anual en la función serotoninérgica cerebral (**Bianchi y col, 2002**), aunque esto requerirá de estudios utilizando estrategias que permitan medir directamente las variables serotoninérgicas cerebrales.

Aunque asumimos que el sistema serotoninérgico periférico (sangre, plaquetas y plasma) puede ser un modelo útil para el estudio de las enfermedades afectivas, particularmente la depresión, y que cambios similares de los parámetros estudiados pueden estar ocurriendo en el sistema nervioso central, pero se hace particular énfasis en que cuando se pretende estudiar la función serotoninérgica y su relación con las enfermedades afectivas, debe considerarse el tipo de preparación sanguínea estudiada, así como de tener en cuenta la variación estacional de la serotonina.

ESTUDIO 2. EL SISTEMA SEROTONINERGICO PERIFÉRICO EN PACIENTES DEPRIMIDOS

OBJETIVOS

Estudiar las concentraciones de serotonina y triptófano en sangre, plasma y plaquetas, en sujetos normales y en pacientes deprimidos, evaluando la posible correlación entre los niveles de estos metabolitos con el puntaje de severidad de la depresión. Así mismo, también se medirá la densidad y afinidad del transportador de serotonina en la membrana plaquetaria, comparando los valores cinéticos (K_d y B_{max}) de los pacientes deprimidos vs. los de los sujetos control.

HIPÓTESIS

1.- H_i : Los niveles de triptófano y serotonina en plasma libre de plaquetas (PLP), plasma rico en plaquetas (PRP) y en sangre de los pacientes deprimidos son diferentes a los niveles de los voluntarios sanos.

H_o : Los niveles de triptófano y serotonina en plasma libre de plaquetas (PLP), plasma rico en plaquetas (PRP) y en sangre de los pacientes deprimidos no difieren de los niveles de los voluntarios sanos.

2.- H_i : Existen diferencias en la densidad (B_{max}) y afinidad (K_d) del transportador de serotonina entre el grupo control y los pacientes deprimidos.

H_o : No existen diferencias en la densidad (B_{max}) y afinidad (K_d) del transportador de serotonina entre el grupo control y los pacientes deprimidos.

3.- H_i : Los niveles de serotonina y triptófano en sangre y plaquetas se modifican por efecto del tratamiento con antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina.

H_o : Los niveles de serotonina y triptófano en sangre y plaquetas no se modifican por efecto del tratamiento con antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina.

MATERIAL Y METODOS

Tipo de investigación. Estudio longitudinal, comparativo de casos y controles, pareados por edad y sexo.

Tamaño de muestra. La muestra fue de 30 sujetos sanos como controles, y 30 pacientes con diagnóstico de depresión mayor.

Consideraciones éticas. Las consideraciones éticas para este estudio, se basaron en la Declaración de Helsinki y de la Asociación Médica Mundial en Tokio, en 1975, así como en las de la evaluación del comité ético del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz".

Criterios de inclusión:

1. Pacientes con diagnóstico de trastorno Depresivo Mayor (episodio único o recurrente) con o sin síntomas melancólicos según criterios del DSM-IV-TR.
2. Edad entre 18 y 45 años
3. Duración del episodio actual entre 45 días y 12 meses.
4. Sintomatología depresiva de moderada a severa. (Hamilton D > a 20 pts.)
5. No encontrarse tomando tratamiento farmacológico para la depresión por lo menos en 15 días y si tomara fluoxetina, en 4 semanas.
6. Que no presentaran un cuadro infeccioso durante las últimas dos semanas.
7. Que no presentaran cuadros de trastorno de ansiedad o trastorno de la personalidad como diagnóstico primario.
8. Que no tenga conducta ni ideación suicida.
9. Sin otras enfermedades físicas.

Criterios de no inclusión:

1. Pacientes con antecedentes de crisis convulsivas o epilepsia.
2. Pacientes con marcapasos.
3. Pacientes con objetos metálicos o magnéticos en el cráneo.
4. Pacientes con enfermedades crónico-degenerativas.

5. Pacientes que se encuentren actualmente bajo tratamiento neurológico o psiquiátrico.
6. Pacientes con abuso y dependencia actual o pasada de alcohol y drogas.
7. Pacientes con depresión bipolar y psicótica.
8. Pacientes que usen anticoagulantes

Criterios de exclusión:

1. Empeoramiento del cuadro depresivo.
2. Cualquier motivo de riesgo suicida.
3. Efectos colaterales inesperados.
4. Petición expresa del paciente de ser excluido del estudio.
5. Evaluación incompleta.

Pacientes deprimidos

Los pacientes se reclutaron de la consulta externa del INP que tuvieran un padecimiento de depresión sin rasgos suicidas, que cumplieran con los criterios de inclusión. Se estudiaron 30 pacientes (24 mujeres y 6 hombres) cuya edad promedio fue de 34 ± 11 años (rango 18-45 años). Los pacientes cumplieron los criterios para el diagnóstico de Trastorno Depresivo Mayor episodio único o recurrente, de acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de la Asociación Psiquiátrica Americana, (DSM-IV, *American Psychiatric Association*, 1994). La severidad de la sintomatología depresiva fue medida por el clínico por medio de la escala Hamilton para Depresión (Hamilton, 1960), así como por los pacientes mediante el Inventario de Beck para Depresión (Beck, 1961). Todos los pacientes incluidos tuvieron un puntaje igual o mayor a 22 puntos en la escala HDRS. Se incluyeron pacientes que no estuvieran bajo tratamiento farmacológico antidepresivo al menos durante 30 días previos al estudio. Además, a los pacientes se les aplicó la entrevista estructurada para trastornos de la personalidad SCID-II para detectar y descartar sujetos con cualquier trastorno grave de la personalidad asociado al cuadro de depresión.

Para evitar variaciones por estacionalidad los pacientes fueron pareados por edad y sexo con sus controles. Las pacientes mujeres además fueron pareadas de acuerdo al estadio de su fase de ciclo menstrual con sus controles. Todos los pacientes incluidos fueron referidos del servicio de consulta externa del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente", en la Ciudad de México. Los pacientes fueron evaluados por un investigador quien aplicó la versión validada en español del *Mini-International Neuropsychiatric Interview* (MINI; Heinze, 2000), para corroborar el diagnóstico y descartar cualquier otro padecimiento psiquiátrico. Los pacientes que tuvieron algún trastorno neurológico y/u otro padecimiento psiquiátrico, incluyendo a los de uso, abuso, o dependencia al alcohol y sustancias psicoactivas, fueron excluidos del estudio, así como a las mujeres embarazadas.

Voluntarios sanos

El grupo control lo conformaron treinta sujetos sanos con una media de edad de 32.3 ± 10.8 años (24 mujeres, 6 hombres). Los participantes fueron reclutados de la población abierta. Se les entrevistó y se les aplicó la entrevista estructurada MINI, la cual confirmó que no sufrieran ningún trastorno psiquiátrico, y el SCID-II para descartar alteraciones en el eje II. Ninguno de ellos recibió tratamiento farmacológico por lo menos 3 semanas previas al estudio. Los controles mujeres se parearon de acuerdo con la fase del ciclo menstrual de las pacientes. Todos los candidatos a participar recibieron una minuciosa explicación del estudio; quienes aceptaron participar voluntariamente firmaron una hoja de consentimiento informado.

Los pacientes deprimidos recibieron de forma abierta, tratamiento farmacológico a base de un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina (fluoxetina o citalopram a dosis de 20 y 10 mg/día respectivamente). A todos los pacientes que presentaron remisión de los síntomas depresivos (definido como una calificación total no mayor a 5 puntos en la Escala Hamilton de depresión y menor a 7 puntos en el Inventario de depresión de Beck), se les tomó nuevamente una muestra de sangre para cuantificar los niveles sanguíneos de serotonina y triptófano.

Los pacientes seleccionados y los voluntarios sanos que aceptaron participar en este protocolo de investigación se programaron para toma de muestra, que consistió de una toma única de aproximadamente 50 ml de sangre (en el mismo horario). Todos los participantes del estudio fueron examinados clínicamente y se les realizaron pruebas de laboratorio de rutina (biometría hemática completa, química sanguínea de 4 elementos, examen general de orina, y pruebas de función tiroidea para descartar cualquier enfermedad orgánica.

Cada muestra de sangre se manejó de independiente y ciegamente. El plasma rico en plaquetas (PRP) se separó inmediatamente para preparar las membranas de plaquetas requeridas para la medición del transportador serotoninérgico. El plasma libre de plaquetas (PLP) y la sangre total se repartieron en alícuotas mantenidas a -70°C hasta su procesamiento para las determinaciones moleculares (Tabla 4.)

Tabla 4. Determinaciones moleculares

Molécula	Detectable en	Volumen de sangre	Temperatura de almacenamiento
Triptófano	PLP, PRP, sangre	10 ml	-70°C
Serotonina	PLP, PRP, sangre	Determinado en la misma muestra	-70°C
Transportador de serotonina	Membranas plaquetarias	40 ml	-70°C

Procedimiento para la cuantificación de serotonina y triptófano

A todos los participantes se les tomó muestra de sangre entre las 8 y 9 A.M., en ayunas. Tomando en consideración el reporte de **Ortiz y col., (1988)**, en relación a la existencia de 2 pozas, una plaquetaria y otra plasmática, se realizó la preparación de plasma rico en plaquetas (PRP) y de plasma libre de plaquetas (PLP). Según **Sarrias y col. (1987)** brevemente, se obtuvieron 15 ml de sangre de cada sujeto, en un tubo de plástico que contenía 275 μl de K_3EDTA al 10% como anticoagulante; el tubo se mezcló suavemente y se tomó una alícuota de 1 ml de sangre en un tubo de microcentrífuga que se almacenó a -70°C hasta su análisis. La sangre restante se centrifugó a $170 \times g$ durante 15 minutos para obtener el PRP del cual se tomó una alícuota de 600 μl y fue almacenada a -70°C , el PRP restante se transfirió a otro

tubo que se centrifugó a 1000 x g por 15 minutos, el sobrenadante (plasma pobre en plaquetas, PPP) fue transferido a otro tubo y centrifugado a 1000 x g durante 30 minutos para obtener el PLP, que se guardó a -70° C.

Preparación de la muestra para el análisis cromatográfico

Las muestras fueron preparadas para el análisis cromatográfico HPLC de acuerdo con el método de **Anderson y col., (1987)**: brevemente, en un tubo de microcentrifuga se colocaron 250 μ l de muestra y 50 μ l de ácido ascórbico al 25 %, el tubo fue agitado suavemente en el vórtex y se le adicionaron 50 μ l de ácido perclórico 3.4 M, el tubo se agitó vigorosamente durante 1 minuto y la mezcla se dejó reposar 10 minutos a 4° C. Posteriormente el tubo se centrifugó a 6,000 x g por 5 minutos, el sobrenadante se filtró a través de una membrana de 0.45 μ m y una alícuota de 50 μ l se inyectó al cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (HPLC).

Sistema cromatográfico

El equipo de cromatografía HPLC consistió de una bomba 510 Waters (Milford, MA, U.S.A), un automuestreador Waters 710 WISP, un guardacolumna Waters empacado con inserto Nova-pak C_{18} , una columna Nova-pak (150 X 3.9 mm I.D.) de acero inoxidable. Un detector de fluorescencia Waters 470. La longitud de onda de excitación fue de 278 nm y de emisión de 335nm. El análisis se realizó de forma isocrática a 1.00 ml/min. La fase móvil se filtró a través de un filtro de 0.22 μ m. Se usó un programa de ganancia de 0-6 min con una ganancia X 1 y de 6-13 min con una ganancia X 100. El tiempo de retención fue de 5 minutos para triptófano y 7.84 minutos para serotonina. El coeficiente de variación intraensayo del método fue de 1.77% para triptófano (n = 20, 8.55 μ g/ml) y 5.30% para serotonina (n = 20, 40.65 ng/ml). El coeficiente de variación interensayo fue de 3.08 % para triptófano (n = 5, 8.98 μ g/ml) y 5.24 % para serotonina (n = 4, 43.75 ng/ml). La fase móvil consistió de ácido cítrico 12.16 mM, fosfato dibásico de amonio 11.60 mM, octilsulfonato de sodio 2.54 mM, fosfato de dibutilamina 3.32 mM y Na_2EDTA 1.11 mM, pH 3.7 y acetonitrilo en una proporción (95/5) preparada según **Lee Chin (1990)**.

Procedimiento para el ensayo de unión del transportador

Las plaquetas obtenidas se preparan de acuerdo a un protocolo estándar como sigue: Las muestras de sangre (30 ml) se toman con jeringas conteniendo 0.30 ml de EDTA al 7.5% (pH 7.4), para evitar la coagulación, y el tubo se centrifuga a 900 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente, y de la interfase del paquete de eritrocitos y el suero se obtiene la fracción de plasma rico en plaquetas (PRP). Todos los siguientes pasos se realizan a 0-4° C. El botón de plaquetas se obtuvo por centrifugación a 3400 rpm durante 15 minutos, se descartó el sobrenadante, y el botón de plaquetas se resuspende en 2 ml de buffer de fosfato salino-glucosa (pH 7.2) y se centrifuga a 3400 rpm por 15 min. Después de descartar el sobrenadante la pastilla es almacenada a -70° C hasta el momento de realizar el estudio de unión.

Sitios de recaptura de serotonina (ensayo de unión con ³H-paroxetina)

El botón de plaquetas se descongeló lentamente, se resuspendió en 2 ml de Tris 5 mMol conteniendo 0.1 % EDTA (pH 7.5) y se homogeneizó con un Ultrasonic Cole Palmer, serie 4710 por 60 segundos a nivel moderado de 40. La preparación homogeneizada se centrifugó a 50,000 x g durante 30 minutos a 4°C en una centrifuga refrigerada Sorval Combi plus, Dupont. El sobrenadante se decantó y el botón de membranas se lavó en 2.0 ml de buffer de incubación frío (tris 50 nMol, NaCl 120 mMol, KCl 5 mMol, MgCl 2mMol, ácido ascórbico 0.05 mMol, a pH 7.3) y resuspendió con un homogenizador.

Los sitios de recaptura de serotonina se midieron usando ³H-paroxetina como ligando de unión siguiendo el método de **Jurado y col. (2003)**. La medición se realizó por triplicado en tubos con buffer de incubación, ³H-paroxetina (0.078-10 nM), 130 µl de suspensión de membranas con y sin solución de fluoxetina 2 µM, en un volumen total de 1000 µl y se incubó a 37° C por 2 horas. La incubación termina por filtración rápida a través de un multifiltros Millipore, con filtros GF/B (Biomedical Res Lab) y lavados con 2 ml de buffer Tris 50 mM pH 7.7, a 0 – 4 ° C, los cuales contenían 0.01 % de albúmina bovina sérica. Los filtros se secan a temperatura ambiente y se colocan en viales con 5 ml de líquido de centelleo (Fisher). La radioactividad se midió

en un contador de centelleo para radiación beta (Beckman LS 6000 SC). La unión específica se determinó como la diferencia entre la unión total menos la unión no específica. La unión inespecífica se determina por la adición de fluoxetina 2µM.

Análisis estadístico

Se determinó la existencia de diferencias estadísticamente significativas por medio del análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y se utilizó la prueba de Tuckey HSD como prueba *post hoc*, con el programa SPSS 12.00 (Statistical Software by SPSS Inc.). En todos los casos los datos representan la media ± el error estándar.

RESULTADOS

Los resultados de laboratorio y gabinete como biometría hemática completa, química sanguínea, función tiroidea (T3, T4 y TSH), y examen general de orina resultaron normales tanto en los pacientes deprimidos como en los voluntarios sanos. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos (no se muestran datos). Al inicio del estudio, los pacientes tuvieron diferencias significativas en la severidad de la sintomatología depresiva comparados con los sujetos control (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de escalas Hamilton y Beck para diagnóstico de depresión.

	Escala de Hamilton	Inventario de Beck
Voluntarios sanos	1.25 ± 0.35	3.3 ± 0.78
Pacientes deprimidos antes del tratamiento	25.21 ± 0.62	25.6 ± 1.74
Pacientes deprimidos después del tratamiento	3.3 ± 1.25	4.23 ± 1.07

El tratamiento farmacológico con fluoxetina o citalopram logró la remisión de los síntomas según las escalas de Hamilton (3.3 ± 1.25) y de Beck (4.23 ± 1.07) al final del estudio. El tratamiento antidepresivo no produjo cambios significativos en el peso corporal de los pacientes que se mantuvo en los mismos valores que al inicio del tratamiento y fue similar al de los voluntarios sanos (64.8 ± 2.7, 63.7 ± 2.0, 65.7 ± 1.6, grupos control, depresión y post-tratamiento respectivamente).

Plaquetas en sangre

Como puede observarse en la figura 1, aunque el número de plaquetas fue ligeramente más bajo en los pacientes deprimidos en comparación con los sujetos control, la diferencia no fue estadísticamente significativa. Por otro lado, el tratamiento antidepresivo tampoco produjo cambios significativos en el número de plaquetas en los pacientes ($F_{2,74} = 2.522$; $P = 0.087$).

Niveles de serotonina en sangre

El promedio de la concentración de serotonina en sangre en los pacientes deprimidos fue ligeramente mayor comparada con el promedio de los controles (Figura 1), aunque la diferencia no fue significativa, sin embargo al final del tratamiento antidepresivo los niveles de serotonina fueron significativamente más bajos comparados con los niveles iniciales en los pacientes y con los controles ($F_{2,74} = 11.281$; $P < 0.000$).

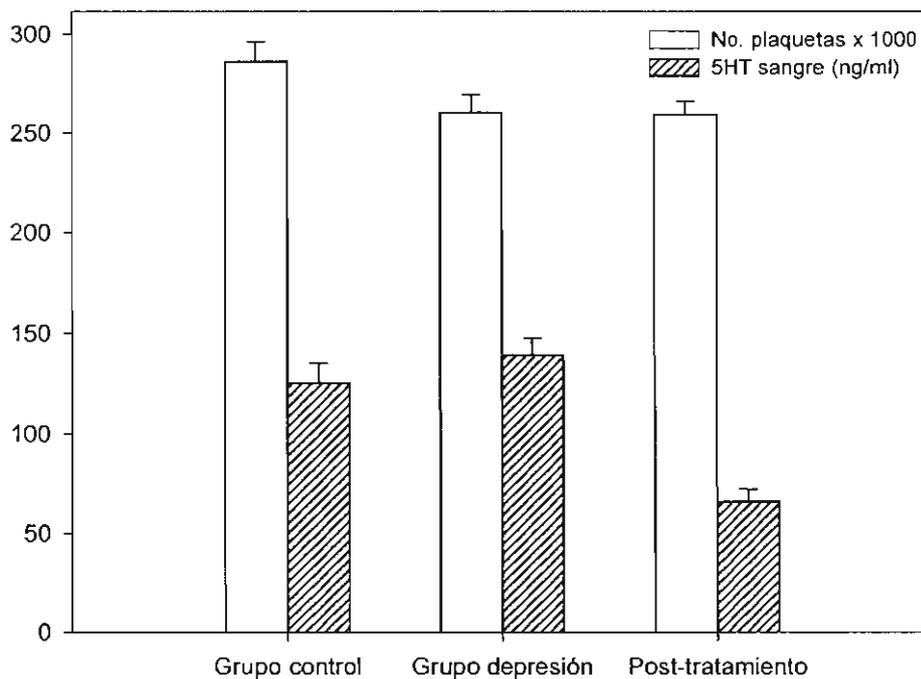


Figura 1. Número de plaquetas y concentración de serotonina sanguínea.

Niveles de serotonina en plasma libre de plaquetas

Aunque el promedio de la concentración de serotonina en PLP fue más baja en los pacientes deprimidos (3.57 ± 0.375) en comparación con los controles (5.79 ± 1.078), la diferencia casi alcanza a ser significativa ($p = 0.051$), pero al aplicar la prueba de Tuckey HSD la diferencia entre controles y pacientes deprimidos así como al final del tratamiento antidepresivo no fue significativa ($F_{2,74} = 1.603$; $P = 0.208$) (Figura 2).

Contenido de serotonina en plaquetas

Al igual que la serotonina sanguínea, el contenido de serotonina plaquetaria en los pacientes deprimidos (Figura 3) no mostró diferencias significativas respecto a los controles. Sin embargo, al final del tratamiento los niveles de serotonina plaquetaria fueron significativamente más bajos comparados con los niveles iniciales y los niveles de los sujetos control ($F_{2,74} = 13.564$; $P < 0.000$).

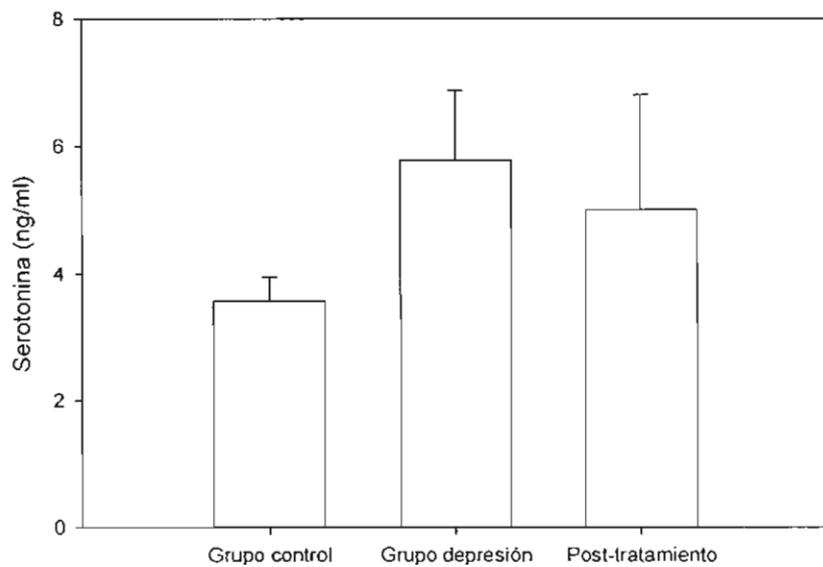


Figura 2. Concentración de serotonina en la preparación de plasma libre de plaquetas

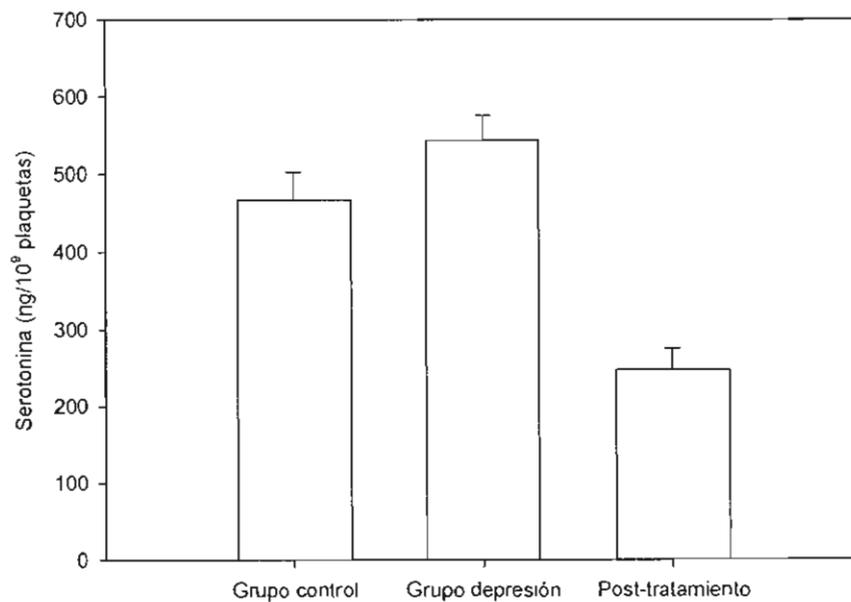


Figura 3 . Contenido de serotonina en plaquetas.

Niveles de triptófano en sangre

Los niveles de triptófano en sangre (Figura 4) no mostraron diferencias entre los pacientes deprimidos y los sujetos control, y contrariamente a la serotonina, la concentración de triptófano no cambió por el tratamiento en los pacientes deprimidos ($F_{2,73} = 0.104$; $P = 0.901$).

Niveles de triptófano en preparación rica en plaquetas

Los niveles de triptófano en plaquetas (Figura 4) tampoco mostraron diferencias entre los pacientes deprimidos y los sujetos control, ni por efecto del tratamiento ($F_{2,74} = 1.213$; $P = 0.303$).

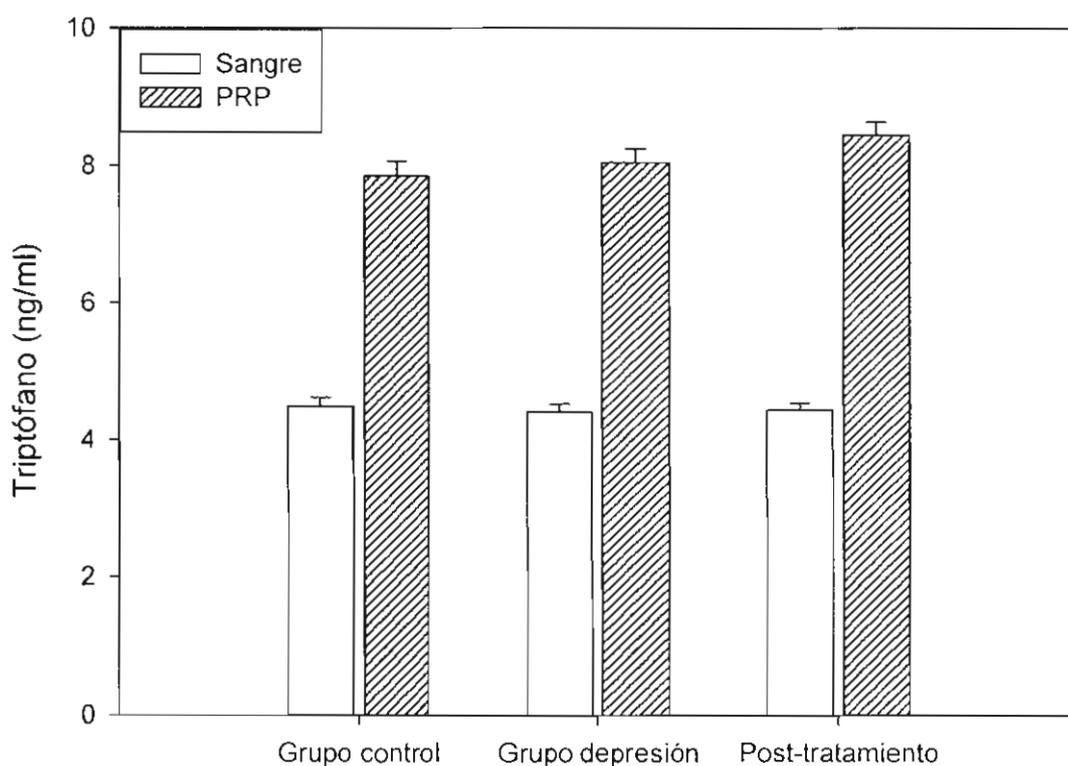


Figura 4. Concentración de triptófano en sangre y en plasma rico en plaquetas

Densidad del transportador de serotonina (B_{max})

No se encontraron diferencias en la densidad del transportador de serotonina entre los pacientes deprimidos y los sujetos control ($F_{1,58} = 0.015$; $P = 0.902$).

Afinidad del transportador de serotonina (K_d)

Tampoco se encontraron diferencias en la afinidad del transportador de serotonina entre los pacientes deprimidos y los sujetos control ($F_{1,58} = 0.160$; $P = 0.0.691$)

DISCUSIÓN

En este estudio se investigaron las concentraciones de serotonina y de triptófano tanto en la sangre como en las plaquetas para evaluar las posibles diferencias entre los pacientes deprimidos y los voluntarios sanos. Cabe mencionar que este es el primer estudio al respecto que se realiza en sujetos mexicanos. Se evaluó además, el efecto del tratamiento antidepresivo en la concentración de estos metabolitos.

Los pacientes con depresión tuvieron puntajes de severidad en los síntomas depresivos significativamente mayores que los sujetos control, evaluados tanto con la escala de Hamilton como con la escala de Beck (Tabla 5). El tratamiento antidepresivo produjo una significativa reducción en la severidad de los síntomas (Tabla 4), mientras que no tuvo efecto sobre el peso corporal de los pacientes. Al respecto, está documentado que el incremento ponderal ocurre más frecuentemente en pacientes deprimidos a los que se les prescribe paroxetina mas que con fluoxetina (Calil, 2001). Debido a que este ultimo fue el medicamento más empleado en los pacientes de este estudio, consideramos que esta es la razón de no haber encontrado cambios de peso significativos.

En los parámetros sanguíneos, el número de plaquetas por mililitro de sangre fue similar entre los pacientes y los controles, y el tratamiento con antidepresivos no produjo cambios en el número de plaquetas de los pacientes.

La concentración de serotonina en pacientes deprimidos fue similar a la de los controles, lo que significa que nuestros pacientes no presentan cambios relacionados con la depresión en la serotonina en sangre, ni en la concentración de serotonina en plaquetas, comparados con los sujetos control. Nuestros resultados difieren de algunos estudios previos como los de **Sarrias y col. (1987)**, **Quintana (1992)** o **Cleare (1997)**, quienes en pacientes deprimidos encontraron concentraciones de serotonina plaquetaria menores que en los controles, aunque por otro lado, coinciden con los reportes de **Mann y col., (1992)**, **Karege y col., (1994)**, **Mück-Seler y col., (1991)**, **(1996)**, y **Hughes y col., (1996)**, quienes no encontraron diferencias entre los pacientes deprimidos y los controles.

Las discrepancias encontradas en la literatura se pueden explicar teniendo en cuenta tres aspectos. El primero comprende los factores raciales que han sido considerados en los estudios de **Cuccaro y col., (1993)**; **Cook y col., (1995)**, y **Hughes y col., (1996)**. Particularmente **Hughes y col., (1996)**, encontraron al comparar niños y adolescentes con alteraciones en el estado de ánimo con sus respectivos controles que los pacientes afro-americanos tuvieron niveles de serotonina sanguíneos más altos que los caucásicos. Sin embargo, no encontraron diferencias entre pacientes con alteraciones en el estado de ánimo y los controles en el grupo étnico afro-americano, mientras que los pacientes caucásicos sí mostraron diferencias en los niveles de serotonina relacionados con la depresión. Estos autores proponen que la raza es una variable crítica que necesita ser controlada en los estudios de marcadores biológicos. En México, este es el primer estudio que se realiza al respecto, por lo que será necesario investigar más los aspectos raciales.

El segundo aspecto es el fisiológico, al respecto **Karege y col., (1994)** mencionan que diversos factores pueden estar involucrados en el control de almacenamiento de serotonina por las plaquetas tales como los mecanismos de la recaptura, el proceso de almacenamiento, el proceso de liberación, la conjugación intracelular, o la degradación de esta amina. Cualquier alteración de estos factores podría afectar el contenido plaquetario de serotonina.

El tercer aspecto es metodológico, Cleare (1997) estudió 17 pacientes e incluyó 4 pacientes con historia de intento suicida, lo que puede influir en sus resultados, ya que Mann (1992) mostró que los pacientes deprimidos con intento suicida tienen niveles menores de serotonina sanguínea y plaquetaria. Para cuidar este aspecto, los pacientes de nuestro estudio fueron cuidadosamente seleccionados y evaluados, aplicando entrevistas semiestructuradas (MINI y SCID II) por dos investigadores clínicos, para eliminar el posible sesgo de la comorbilidad de los trastornos de personalidad, los intentos o ideación suicida, u otros trastornos psiquiátricos.

Quintana (1992) estudió un grupo de pacientes deprimidos entre 32 a 64 años, de los cuales el 60 % fueron mujeres, y la diferencia con nuestro estudio puede ser explicada por los diferentes intervalos de edades considerados, así como por las diferencias de género ya que en nuestro estudio el 80 % fueron mujeres.

Respecto a la concentración de triptófano en sangre, este parecía ser el indicador del triptófano que puede convertirse en serotonina en el sistema nervioso central, por lo que se había sugerido que podía ser usado como referencia de la actividad serotoninérgica central (**Quintana, 1992**). Sin embargo, al comparar estas concentraciones entre los pacientes deprimidos contra las de los sujetos control, no se encontraron diferencias en la sangre ni en las plaquetas. Además, el tratamiento con antidepresivos no produjo ningún cambio en los niveles de triptófano. Podemos concluir que nuestros resultados no apoyan esa propuesta. Otros autores han reportado niveles de triptófano plasmático disminuidos en los pacientes deprimidos (**Russ y col., 1990; Karege y col., 1994**), pero el grupo de **Aymard y col., (1994)** tampoco encontró diferencia en la concentración de triptófano comparando pacientes vs. controles.

Respecto a los sitios de recaptura, estos se han estudiado en las plaquetas así como en las células cerebrales usando radioligandos como la [³H] imipramina y [³H] paroxetina (**Raisman y col., 1979; Marcusson y col., 1988; Rosel y col., 1999**) como se comentó en un inicio varios estudios han reportado bajos números de sitios de unión de [³H] imipramina en plaquetas de pacientes deprimidos, sugiriendo que podía ser usado como un marcador biológico de depresión (**Nemeroff y col, 1991**,

Rosel y col., 1997). Sin embargo, en nuestra medición del transportador de recaptura de paroxetina no hubo diferencias entre los pacientes deprimidos y los controles. Usando un ligando más selectivo para el transportador serotonina como [³H] paroxetina también se han encontrado discrepancias ya que algunos estudios encuentran un número disminuido de sitios de unión a [³H] paroxetina, (**Nemeroff y col., 1991**), y otros no encontraron cambios entre pacientes deprimidos en comparación con los controles (**Suranyi-Cadote y col., 1989; Iny y col., 1989**), en este estudio, tampoco encontramos diferencias en el número de los sitios de unión (B_{max}), ni en la afinidad (K_d). Respecto a esta discrepancia se pueden considerar factores tales como la selección de pacientes, la presencia y la naturaleza de diferentes tratamientos psiquiátricos, el periodo de lavado, así como el número reducido de sujetos incluidos en los diferentes estudios. En nuestro estudio se hizo particular énfasis en considerar los aspectos metodológicos de los ensayos de unión, ya que se había encontrado que, además de tener óptima temperatura y tiempo de incubación, la concentración de proteínas es un factor crítico en el ensayo de unión, ya que bajas concentraciones de proteínas provocan una baja sensibilidad del ensayo, mientras que altas concentraciones de proteínas provocaban desviaciones en la linealidad de la curva. Por esta razón se sugiere que para los ensayos de unión se use una concentración de 100 a 200 µg/ml de medio de incubación.

Por otro lado, los compuestos que inhiben el transporte de serotonina han demostrado su eficacia antidepresiva, entre ellos se encuentran la fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, citalopram y sertralina. En este estudio se encontró que los niveles de serotonina sanguínea y plaquetaria disminuyeron después del tratamiento con citalopram o fluoxetina (inhibidores de la recaptura de serotonina). Este hallazgo está de acuerdo con lo reportado con **Kremer y col., (1990)**, **Celada y col., (1992)**, **Karege y col., (1994)**, **Blardi y col., (2002)**, y **Castrogiovanni (2003)**, quienes reportaron la disminución de los niveles de serotonina en sangre y en plaquetas inducida por el tratamiento antidepresivo. **Calil (2001)** menciona que los mecanismos hipotéticos de la remisión de los síntomas depresivos con los inhibidores selectivos de la recaptura incluyen la disminución de la serotonina disponible en la sinapsis como una consecuencia de la regulación descendente de los receptores serotoninérgicos ($5HT_2$ y/o $5-HT_{1A}$); además de los efectos secundarios dependientes

de otros sistemas de neurotransmisores tales como los noradrenérgicos, dopaminérgicos, colinérgicos y GABAérgicos, así como las diferencias en la sensibilidad biológica y cognitiva de cada paciente. El drástico decremento que produjo el tratamiento en la concentración de la serotonina sanguínea y plaquetaria, se puede interpretar como consecuencia de la acción de los medicamentos al inhibir la recaptura de serotonina. La entrada de serotonina en la plaqueta es disminuida por el efecto del antidepresivo, lo que disminuye los niveles de la amina contenida en ellas. **Bardi y col., (2002)** sugieren que las mediciones de serotonina periférica pueden ser usadas como un posible marcador periférico para el estudio de la respuesta clínica en el paciente deprimido.

En nuestro estudio todos los pacientes deprimidos mejoraron de sus síntomas depresivos con el uso de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina, lo que es común en paciente deprimidos sin comorbilidad agregada, a diferencia con los pacientes deprimidos con otro padecimiento psiquiátrico comórbido, como los trastornos de personalidad, en donde el esquema farmacológico con antidepresivos ISRS no dan tan buenos resultados (**Papakostas y col, 2003**)

DISCUSIÓN GENERAL

La Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica Mexicana (**Frenk, 1999; Medina-Mora y col., 2003**) refiere que en nuestro país los trastornos neuropsiquiátricos ocupan el quinto lugar como carga de enfermedad al considerar indicadores de muerte prematura y días vividos con discapacidad. Cuatro de las diez enfermedades más discapacitantes son neuropsiquiátricas, entre las que se mencionan la esquizofrenia, la depresión, los trastornos obsesivos compulsivos y el alcoholismo. Más aun, se espera que el índice de enfermos se incremente debido a problemas actuales tales como la pobreza, la violencia, el incremento en el abuso de drogas y el envejecimiento de la población entre otros factores. En las mujeres en edad reproductiva la depresión es la principal causa de discapacidad. Las mujeres tienen mayor riesgo de desarrollar un primer episodio depresivo desde la adolescencia temprana hasta la sexta década de la vida. Los datos epidemiológicos nacionales e internacionales coinciden en señalar que la prevalencia de la depresión es de dos mujeres por un hombre (**Ontiveros, 2005**)

A pesar de los avances científicos que se han tenido y considerando los aspectos psicosociales como el estigma social que segrega a los pacientes psiquiátricos y el tiempo que pasa entre que el paciente identifica sus síntomas y recibe atención especializada, el médico psiquiatra realiza el diagnóstico de manera subjetiva mediante parámetros clinimétricos que requieren de sustentos bioquímicos medibles para su confirmación. Es por esto que el concepto de marcadores biológicos ha ido cobrando importancia en la psiquiatría, debido a los intentos de dilucidar la fisiopatología de los trastornos psiquiátricos. **Kupfer (1991)** menciona que los métodos de laboratorio habitualmente tienen una participación con tres objetivos primordiales en la medicina psiquiátrica: 1) descartar o confirmar una patogénesis médica primaria que puede coexistir o confundirse con un síndrome psiquiátrico; 2) como una prueba de laboratorio para confirmar un diagnóstico psiquiátrico; 3) para conseguir una mejor comprensión de los procesos biológicos subyacentes. En este contexto, la búsqueda de marcadores biológicos en psiquiatría ha evolucionado y se han establecido los conceptos de marcador de rasgo que refiere los hallazgos invariables que pueden observarse en los pacientes con trastornos mentales endógenos en la fase aguda y en su remisión y el marcador de estado que indica que

solo se va a manifestar en grado variable mientras este presente la sintomatología de la enfermedad. Teniendo esto como premisa y en la intención de proporcionar conocimientos adicionales en esta área de investigación, en esta tesis se revisaron varios estudios que proponen que las mediciones periféricas de serotonina y su precursor triptófano, en sangre, suero, plasma, y/o plaquetas, puedan servir como marcadores biológicos periféricos de la depresión. Sin embargo, las divergencias en los hallazgos clínicos documentaron una controversia respecto a la utilidad de estas mediciones, así como a la utilidad de la medición de la constante de afinidad (K_d) así como a la densidad (B_{max}) del transportador de serotonina en la membrana plaquetaria. En este trabajo se consideraron varias causas para esta controversia, entre las que se encuentran: el uso de técnicas indirectas debido a las dificultades para el acceso al estudio del sistema nervioso central en los humanos, la inadecuada o insuficiente delimitación clínica del padecimiento o bien la poca consideración de la comorbilidad, que puede derivar en sesgos en los estudios clínicos, así como a las variaciones fisiológicas de la serotonina y el triptófano en diferentes fluidos biológicos, y/o de su transportador; por ultimo, se consideraron aspectos técnicos en la optimización de las metodologías empleadas.

Kupfer (1991) menciona que existen varios factores que pueden poner en entredicho la validez y seguridad de la evaluación de estos marcadores biológicos y que debería incluirse una especial atención sobre los factores diurnos, circadianos y circanuales en cuanto a la evaluación de los parámetros específicos que pueden ser afectados por la fase circádica o circanual, situación que ya había sido señalada por **Wirz-Justice y Richter (1979)**, **Swade y Coppen., (1980)** y **Sarrias., (1989)**. Estos investigadores además de informar la existencia de la influencia de las variaciones sobre los parámetros serotoninérgicos mencionan la influencia de la estacionalidad como causa de variaciones que podían provocar una inconsistencia de los de la reproducibilidad de los hallazgos encontrados particularmente en los parámetros serotoninérgicos. Sin embargo estos estudios se han realizado en países nórdicos en donde las variaciones estacionales son muy severas y en las que se ha mencionado la existencia de un desorden afectivo estacional, pero en nuestro país que tiene una ubicación cercana al ecuador en donde las variaciones climáticas no son intensas y los cambios en el ciclo luz-obscuridad no difieren mayormente aun no

se ha realizado ningún estudio al respecto. Por este motivo, esta investigación inició estudiando la posibilidad de que los sujetos sanos mexicanos tuvieran variaciones mensuales en las concentraciones de serotonina y triptófano, que nos permitieran determinar cual de las preparaciones sanguíneas resultara de mas utilidad para los estudios clínicos avocados al trastorno depresivo. Este estudio mostró que:

1. Existen variaciones mensuales en los niveles de serotonina y triptófano en diferentes preparaciones sanguíneas de sujetos sanos residentes de la ciudad de México.
2. Las variaciones mensuales de las concentraciones de triptófano mostraron un perfil similar en las preparaciones sanguíneas estudiadas (PRP, PLP, sangre y suero).
3. A diferencia del triptófano, las variaciones mensuales de las concentraciones de serotonina mostraron perfiles diferentes en cada una de las preparaciones estudiadas (PRP, PLP, sangre y suero).
4. El perfil de las variaciones mensuales de serotonina en el plasma rico en plaquetas (PRP) correlacionó inversamente con el fotoperiodo. Las menores concentraciones de serotonina en esta preparación (PRP) correspondieron a los días con intervalo de luz mas largos
5. De acuerdo con el análisis cosinor, la serotonina plaquetaria (PRP) tiene una alta probabilidad de tener ritmo circanual.

Los datos muestran que las concentraciones mas bajas de triptófano se encontraron en marzo y mayo (primavera), y se incrementaron en noviembre (otoño). Sin embargo, el análisis cosinor mostró sólo la tendencia a tener ritmicidad bimodal similar al reportado por **Maes y col. (1995)** sin que alcanzara significancia estadística ($p < 0.1$), situación que puede corregirse aumentando el numero de participantes. Sin embargo, difiere del estudio de **Wirz-Justice y col. (1979)**, y **Sarrias y col. (1989)**. Las diferencias en las coordenadas geográficas de los estudios pueden explicar las diferencias entre los estudios en donde se examinan estas funciones biológicas. Se requiere de mayor información sobre la naturaleza de las variaciones pues de acuerdo con **Maes y col. (1995)** existen dos posibilidades: (1) los ritmos observados son debidos a las variaciones estacionales de acuerdo a la disponibilidad diaria del

triptófano y (2) el hallazgo se debe a la modulación estacional putativa de los ritmos circadianos en la disponibilidad del triptófano.

Por otro lado, el hecho de que parte de la variabilidad en los niveles de todos los aminoácidos, incluyendo el triptófano se relacionen a los niveles de proteínas totales séricas puede sugerir que las variaciones en la disponibilidad del triptófano puede ser en parte reflejo una variación de los hábitos dietéticos ya que se existen evidencias de un progresivo incremento en la ingesta de carbohidratos así como de proteínas de primavera a invierno. Se ha sugerido que la variación estacional en la ingesta de proteínas es en parte determinada de manera endógena en función de los requerimientos nutricionales. Aunque en este estudio se realizó en sujetos sanos y no se incluyeron pacientes deprimidos **Benton (2002)** menciona que en invierno cuando la luz es menor los pacientes que sufren de depresión estacional consumen mas alimentos ricos en carbohidratos aunque la ingesta de sin embargo la ingesta de alimentos altos en proteínas no difiere con las estaciones, situación que se esta considerando estudiar mas adelante.

En este estudio no se encontró correlación entre los niveles plasmáticos de triptófano y las variables climáticas, lo que contrasta con **Maes y col. (1995)**, quienes encontraron una relación entre bajas temperaturas y humedad con los perfiles mensuales de los niveles de triptófano de sujetos sanos. Este autor también encontró una relación positiva entre las variaciones mensuales de triptófano y la ocurrencia de suicidios en Bélgica, que esta localizada a 51.2° latitud norte. Las diferencias en las coordenadas geográficas de los estudios pueden explicar las diferencias.

A diferencia del triptófano, los promedios mensuales de la concentración de serotonina de las diferentes fracciones sanguíneas no tuvieron perfiles de variaciones similares entre sí. El perfil de variación mensual de la concentración de serotonina en sangre total y en suero fue diferente del perfil de variación de la concentración de serotonina en plasma rico en plaquetas y al de serotonina plasmática.

El perfil de variaciones de serotonina en PRP mostró valores bajos en mayo, una tendencia a incrementarse de noviembre a enero (otoño a invierno), y valores altos

en marzo-abril (primavera). Las variaciones de esta preparación fueron estadísticamente significativas, y el análisis cosinor mostró la alta probabilidad de que los niveles de serotonina en plaquetas (PRP) tuvieran un ritmo circanual. Un resultado similar reportaron **Wirz-Justice y Richter (1979)**, quienes observaron valores de serotonina plaquetaria altos en primavera y bajos en verano, una tendencia al incremento de otoño a invierno, y un pico en diciembre. Por el contrario **Sarrias y col. (1989)** reportaron valores máximos en primavera-verano, con valores mínimos en febrero y noviembre.

Respecto a la correlación entre las variaciones mensuales de los niveles de serotonina y las condiciones climáticas, la única correlación encontrada en este estudio fue entre los niveles de serotonina en plaquetas (PRP) y el fotoperiodo. **Sarrias y col., (1989)** encontraron que la serotonina en sangre total correlacionaba significativamente con el fotoperiodo, pero no con la temperatura ambiente. El hecho de que no se encuentre una mayor correlación entre las variaciones ambientales y las variaciones mensuales de serotonina plaquetaria, sugieren fuertemente que estas variaciones pudiesen tener un mecanismo endógeno similar al de los ritmos circadianos (**Aguilar-Roblero y col., 1997; Gruart y col., 2002**), por lo que será necesario realizar futuros estudios para explicar esta posibilidad.

Por otro lado, la similitud de las variaciones de triptófano entre las diferentes fracciones sanguíneas, sugiere que el triptófano conforma un solo compartimiento, o que se distribuye en compartimientos intercambiables entre sí. Sin embargo, los diferentes perfiles en las variaciones de serotonina de las fracciones sanguíneas estudiadas sugieren que la serotonina se encuentra confinada en compartimientos altamente definidos, y su intercambio intercompartamental se encuentra regulado. Esto a su vez sugiere que cada compartimiento de serotonina tenga diferentes metabolismos y funciones biológicas (**Lechin y col., 1998**). La diferente respuesta del triptófano al tratamiento antidepresivo en los pacientes deprimidos en contraste a la respuesta de la serotonina, apoya esta diferencia de compartimientos. Resulta interesante que el único compartimiento de serotonina que mostró altas probabilidades de tener ritmicidad ($p < 0.005$) fue el de la fracción plaquetaria, y aunque las variaciones estacionales en México no son extremas como en los países

nórdicos, las concentraciones del plasma rico en plaquetas mostró un perfil de variación circanual.

Por otra parte, dado que la acción de la serotonina en las plaquetas parece tener similitud con algunas acciones a nivel cerebral, no es difícil que el ritmo anual de la concentración de serotonina en las plaquetas refleje una ritmicidad anual en la función serotoninérgica cerebral (**Bianchi y col, 2002**), aunque esto requerirá de estudios utilizando estrategias que permitan medir directamente las variables serotoninérgicas cerebrales.

Aunque inicialmente asumimos que el sistema serotoninérgico periférico (sangre, plaquetas y plasma) puede ser un modelo útil para el estudio de las enfermedades afectivas, particularmente la depresión, y que cambios similares podrían estar ocurriendo en las plaquetas y el sistema nervioso central, encontramos que, cuando se pretende estudiar la función serotoninérgica y su relación con las enfermedades afectivas, debe considerarse el tipo de preparación sanguínea estudiada, así como de tener en cuenta la variación estacional de la serotonina.

Como ya se mencionó el estudio de variación estacional de los niveles de serotonina y triptófano fue realizado en hombres propositivamente ya que el hecho de que también se incluyeran mujeres tenía el inconveniente de que se adicionara una variable adicional que era la variación por el ciclo menstrual. Sin embargo, en un estudio realizado por **Ortiz (1988)** respecto a las diferencias en las concentraciones de serotonina por sexo, el autor menciona que la serotonina plasmática, la serotonina sanguínea y la serotonina plaquetaria era significativamente mayor en las mujeres mientras que el ácido 5-hidroxiindolacético plasmático fue mayor en los hombres. Las altas diferencias en las concentraciones de serotonina entre ambos sexos puede ser un indicador de una función serotoninérgica mas activa en las mujeres (síntesis y/o recaptura). Adicionalmente el hecho de que en la mujer se encontraran concentraciones de ácido 5-idroxiindolacético plasmático mas bajas y una mayor concentración de serotonina plaquetaria puede indicar que los procesos de degradación en las mujeres son más lentos a comparación con los hombre. Considerando este hallazgo al realizar el estudio clínico en búsqueda de evidencias

acerca del valor clínico de la medición de triptófano, serotonina plasmáticos, sanguíneos y plaquetarios, así como de la densidad (Bmax) y afinidad del transportador de serotonina evaluando su posible utilidad como marcador biológico periférico de la depresión se consideró también la variación estacional en los criterios de inclusión de tal forma que cuando se tomaba la muestra del paciente deprimido en esa misma fecha también se tomaba la muestra de su control pareado por edad y sexo, en el caso de que fuera mujer la control sana pareada por edad también se ajustaba al ciclo menstrual de la paciente.

En el estudio clínico se estudiaron las concentraciones de serotonina y triptófano en sangre y en plaquetas para evaluar las posibles diferencias entre los pacientes deprimidos y los voluntarios sanos. Este parece ser el primer estudio que se realiza en sujetos mexicanos. El número de plaquetas por mililitro de sangre fue similar entre pacientes y controles, y el tratamiento con antidepresivos no produjo cambios en el número de plaquetas de los pacientes.

La concentración de serotonina en pacientes deprimidos fue similar a la de los controles, lo que significa que nuestros pacientes no presentan cambios relacionados con la depresión en la serotonina en sangre, ni en la concentración de serotonina en plaquetas, comparados con los sujetos control. Nuestros resultados difieren de algunos estudios previos como los de **Sarrias y col. (1987)**, **Quintana (1992)** o **Cleare (1997)**, quienes en pacientes deprimidos encontraron concentraciones de serotonina plaquetaria menores que en los controles, aunque por otro lado, coinciden con los reportes de **Mann y col. (1992)**, **Karege y col. (1994)**, **Mück-Seler y col. (1991, 1996)**, y **Hughes y col. (1996)**, quienes no encontraron diferencias entre los pacientes deprimidos y los controles.

Las discrepancias encontradas en la literatura se pueden explicar teniendo en cuenta tres aspectos. El primero comprende los factores raciales (**Cuccaro y col., 1993**; **Cook y col., 1995**; y **Hughes y col., 1996**). En México, este es el primer estudio que se realiza al respecto, por lo que será necesario investigar más los aspectos raciales. Otro factor es el fisiológico, por la diversidad de factores que pueden estar involucrados en el control de almacenamiento de serotonina por las

plaquetas. El tercer aspecto es metodológico. Al respecto, los pacientes de nuestro estudio fueron cuidadosamente seleccionados y evaluados por dos investigadores clínicos, quienes aplicaron entrevistas semiestructuradas (MINI y SCID II) con criterios de inclusión rigurosos para eliminar los pacientes con trastornos de personalidad, intentos o ideación suicida, u otros trastornos psiquiátricos.

En el trabajo clínico, no se encontraron diferencias en la concentración de triptófano en sangre ni en plaquetas comparando muestras de pacientes deprimidos contra muestras de sujetos control. El triptófano en sangre parecía ser un indicador del triptófano que puede convertirse en serotonina en el sistema nervioso central, por lo que se había sugerido que podía ser usado como referencia de la actividad serotoninérgica central (**Quintana., 1992**). Sin embargo, nuestros resultados no coinciden con esa propuesta sino con la de **Aymard y col. (1993)** quienes tampoco encontraron diferencia en la concentración de triptófano entre pacientes y controles. Respecto a los sitios de recaptura de serotonina en las plaquetas que se había sugerido como un marcador biológico de depresión (**Nemeroff y col, 1991, Rosel y col., 1997**), nuestros resultados midiendo el pegado de [³H] paroxetina a las plaquetas, no mostraron diferencias en el número de los sitios de unión (B_{max}), ni en la afinidad (K_d), comparando muestras de pacientes deprimidos contra los controles. Otros estudios utilizando [³H] paroxetina tampoco han encontrado diferencias entre pacientes deprimidos y controles (**Tang and Morris, 1985; Kanof y col., 1987**). Con respecto a esta discrepancia se pueden considerar varios factores tales como la selección de pacientes, la presencia y naturaleza de diferentes tratamientos psiquiátricos, el periodo de lavado, así como el numero reducido de sujetos incluidos en los diferentes estudios, en este estudio se hace particular énfasis en considerar los aspectos metodológicos del ensayo de unión empleado. En este trabajo, se evaluó la influencia del uso de diferentes temperaturas y concentraciones de proteínas durante la incubación en los ensayos de unión y se observó su efecto sobre la unión no específica. De acuerdo con nuestros datos, la concentración de proteínas en el medio de incubación es crítica para los ensayos de unión, encontramos que con 20 µg de proteína por ml de medio de incubación tubo un porcentaje de unión no específica de 80%, mientras que el incremento en la concentración de proteínas en el medio de incubación produjo un decremento en la

proporción de unión no específica, que aunque nunca bajo del 30%, era lo suficientemente buena para disminuir los errores de medición. Nuestros datos dieron mediciones óptimas de los ensayos de unión utilizando concentraciones de proteínas entre 100 y 200 µg por mililitro de medio de incubación (**Jurado y col., 2003**).

En nuestro estudio todos los pacientes deprimidos mejoraron de sus síntomas depresivos con el uso de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina, lo que es común en paciente deprimidos sin comorbilidad agregada, a diferencia con los pacientes deprimidos con otro padecimiento psiquiátrico comórbido, como los trastornos de personalidad, en donde el esquema farmacológico con antidepresivos ISRS no dan tan buenos resultados (**Papakostas y col, 2003**). Al respecto, estamos buscando comparar los datos de varios estudios similares en pacientes deprimidos, intentando delimitar la participación de los trastornos de la personalidad en los parámetros serotoninérgicos periféricos; hasta el momento, parece ser que la serotonina y el triptófano se alteran más por ese tipo de trastornos que por la severidad de la depresión en los sujetos.

Es claro que debería establecerse una base de datos normativos que incluya la influencia de varios factores fisiológicos (edad, género, estado hormonal, variación estacional), que puedan ser considerados en los sujetos con trastorno depresivo, para que puedan ser comparados con la población control. Se requieren estudios longitudinales y familiares para establecer las variaciones inter- e intraindividuales de las mediciones plaquetarias durante las diferentes fases de la depresión, y así poder responder a los importantes cuestionamientos de si algunas de esas mediciones son marcadores de estado o rasgo. Con el incremento en el conocimiento de los mecanismos biológicos básicos que incluyen la síntesis, liberación, recaptura y acción de los neurotransmisores como la 5HT, se pueden apreciar las limitaciones, reducir el abuso y beneficiarnos con la utilización de marcadores serotoninérgicos plaquetarios en las enfermedades psiquiátricas.

CONCLUSIONES

En conclusión, aunque el clima en México no es tan extremo como en países nórdicos, el contenido de serotonina en el plasma rico en plaquetas de sujetos voluntarios sanos Mexicanos, tiene un perfil circanual de variaciones, el cual correlaciona con el fotoperiodo, de modo que los niveles más bajos de la serotonina coinciden con la mayor duración de la luz diurna.

Con base en los resultados obtenidos, podemos concluir que:

1. Los pacientes mexicanos no mostraron cambios en las concentraciones de serotonina en sangre ni en las plaquetas, asociada con la depresión.
2. Igualmente, tampoco se encontraron cambios en las concentraciones de triptófano en sangre asociada con la depresión.
3. El tratamiento con medicamentos antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina se asocian con la disminución de la concentración de serotonina tanto en sangre como en plaquetas.
4. Sin embargo, el tratamiento con los mismos medicamentos no produce cambios en las concentraciones de triptófano en sangre.
5. En las condiciones de nuestros pacientes, la serotonina en sangre o en plaquetas no parece ser un indicador de estado de la depresión, aunque pudiera ser un punto de referencia para el tratamiento. Habría que estudiar más este aspecto.
6. Por el contrario, en nuestros pacientes el triptófano en sangre no parece ser indicador ni de la depresión, ni del tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Roblero R, Escobar C, Torner C, Granados-Fuentes D, Salazar-Juarez A, Caldelas I. "Mecanismos generales de regulación fisiológica: acoplamiento de sistemas en oscilación". En el libro: Actualización en Fisiología. Hiriart M, García J, Martínez E, y Velásquez S (comps.). Editado por la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas y la Universidad Nicolaita de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, 1997, pp. 241 – 254
- Alarayed NA, Grama BR, Prichard BNC, Smith CCT. The potentiation of adrenaline-induced in vitro platelet aggregation by ADP, collagen and serotonin and its inhibition by naftopidil and doxazosin in normal human subjects. *Br J Pharmacol* 1995;39:369-74.
- Almeida LG, Valles-Sanchez V, Moreno Aguilar J, Chavez Balderaz RA, García Marín JA, Cortés Sotres JF, Heinze Marín G. Relation of serum cholesterol, lipid, serotonin and tryptophan levels to severity of depression and to suicide attempts. *J of Psychiatry & Neurosc* 1999;25,(4):371-377.
- American Psychiatric Association: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV)*, fourth Edition. Washington, DC, American Psychiatric Association, 1994.
- Anderson A, Marcusson [³H] Paroxetine binding in human platelets in relation to age and sex. *Neurobiol Agin*.1990;11:615.
- Anderson GM, Feibel FC, and Cohen DJ. Determination of serotonin whole blood, platelet-rich plasma, platelet-poor plasma and ultrafiltrate. *Life Sc*.1987;40:1063-1070.
- Anderson GM, Feibel FC, AND Cohen DJ. Determination of serotonin in whole blood, platelet-rich plasma, platelet-poor plasma and ultrafiltrate. *Life Sci*. 1987 40:1063-1070.
- Arango V, Esnberger P, Marzuk PM, Chen JS, Tierney H, Stanley M, Reiss DJ, Mann J. Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT₂ and β-adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:1037-47.
- Arora RC, Meltzer HY. Increased serotonin (5-HT₂) receptor binding as measured by 3-H-lysergic acid diethylamide 5-H-LSD in the blood platelets of depressed patients. *Life.Sci* 1989;44:725-34.
- Arora RC, Meltzer HY. Serotonergic measures in the brains of suicide victims and control subjects. *Am J Psychiatry* 1989; 146:730-6.
- Arranz B, Eriksson A, Mellerup E, Plenge P, Marcusson J. Brain 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, and 5-HT₂ receptors in suicide victims. *Biol Psychiatry* 1994;35:457-63.
- Arranz B, San L, Rosel P, Callado LF, Meana JJ. La neurotransmisión monoaminérgica en el suicidio. El sistema serotoninérgico. *Psiquiatría Biol*. 1997;5:205-12.
- Artigas F, Sarrias MJ, Martínez E, Gelpí E. Serotonin in body fluids: Characterization of human plasmatic and cerebrospinal fluid pools by mean of a new HPLC method. *Life SC*.1985;37:441-447.
- Asberg M, Bertilsson L, Martensson B, Scanlia-Tomba GP, Thorén P, Tråskman-Bendz L. CSF monoamine metabolites in melancholia. *Acta Psychiatry Scand* 1984;69:201-19.
- Asberg M, Thoren L, Traskman P. Serotonin depression: a biochemical subgroup within the affective disorders. *Science* 1976;191:478-80.

- Aymard N, Honore P, AND Carbuccia I. Determination of 5-hydroxytryptamine and tryptophan by liquid chromatography in whole blood. Its interest for the exploration of mental disorders. *Prog Neuro-Psychopharmacol & Biol Psychiat*; 18: 77-86, 1994.
- Badawy AAB, Evans M. Inhibition of rat liver tryptophan pyrrolase activity and elevation of tryptophan concentration by administration of antidepressants *Biochemical Pharmacology* 1981;30:1211-1216.
- Badawy AAB, Morgan J. tryptophan and tryptophan pyrrolase in haem regulation. *Biochem J* 1982;206:451-460.
- Bakish D, Cavazzoni P, Chudzik J, Ravindran A and Hrdina PD. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on platelets serotonin parameters in major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 1997; 41: 184.
- Bakish D, Cavazzoni P, Chudzik J, Ravindran A, Hrdina PD. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on platelet serotonin parameters in major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 1997;41:184-90.
- Beck A.T., Ward C., Mendelson M.. "Beck Depression Inventory (BDI)". *Arch Gen Psychiatry* .1961; 4: 561-571.
- Benton D. Carbohydrate ingestion, blood glucose and mood. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 26:293-308, 2002.
- Berk M, Mitchell VS, Plein H. The platelet intracellular calcium response to serotonin in subsyndromal depression. *Int Clin Psychopharmacol*, 13:107-110, 1998.
- Bianchi M, Moser C, Lazzarini C, Vecchiato E, Crespi F. Forced swimming test and fluoxetine treatment: in vivo evidence that peripheral 5-HT in rat platelet-rich plasma mirrors cerebral extracellular 5-HT levels, whilst 5-HT in isolated platelets mirrors neuronal 5-HT changes. *Experimental. Brain Research*. 2002; 143:191-197.
- Biegan A, Grinspoon A, Blunienfelt B et al. Increased serotonin (5-HT₂) receptor binding on blood platelets of suicidal men. *Psychopharmacology* 1990;100:165-7.
- Biegan A, Weizman A, Karp L, Ram A, Tiano S, Wolff M. Serotonin (5-HT₂) receptor binding in blood platelets-A peripheral marker for depression? *Life Sci* 1987;41:2485-92
- Blardi P, De Lalla A, Leo A, Auterl A, Iapichino S, Di Muro A, Dell'Erba A And Castrogiovanni P. Serotonin and fluoxetine levels in plasma and platelets after fluoxetine treatment in depressive patients. *J Clin Psychopharmacol*; 22(2):131-136, 2002
- Brazell C, McClue SJ, Preston GC, King B, Stahl SM. 5-hydroxytryptamine (5-HT)-induced shape change in human platelets determined by computerized data acquisition: correlation with [125]-iodoLSD binding at 5-HT₂ receptors. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1991;2:17-24.
- Briley MS, Langer SZ, Raisman R, Sechter D, Zarifian E Tritiated imipramine binding sites are decreased in platelets of untreated depressed patients. *Science*.1980;209:303-305.
- Brosov OV, Beliaev BS, Katasonov AB, Zlobine GP. Factor MI, Lideman RR. Does platelet serotonin receptor supersensitivity accompany endogenous depression?. *Biol Psychiat*. 1989;25:375-381.
- Butler J, Leonard BE. The platelet serotonergic system in depression and following sertraline treatment. *Int Clin Psychopharmacol*, 3:343-347, 1988.

- Calil HM. Fluoxetine: A suitable long term treatment. *J Clin Psychiatry*; Vol. 62, suppl. 22: 24-29. 2001.
- Castrogiovanni P, Bardi P, Iapichino S, DE Lalla A, DELL'Erba A, Auteri A. *Psychopharmacology Bulletin*; 37(2): 102-108, 2003.
- Castroviovanni P, DI Muro A, Marazziti D: Imipramine binding as a predictor of fluoxetine response in depressed patients. *Neuropsychobiology*, 31:64-67, 1995.
- Celada P, Dolera M, Alvarez E, And Artigas F. Effects of acute and chronic treatment with fluvoxamine on extracellular and platelet serotonin in the blood of major depressive patients. Relationship to clinical improvement. *J affect Dissord*; 25: 243-250, 1992.
- Cerrito F, Lazzaro MP, Gaidio E, Arminio P, Aloisi G. 5-HT₂ receptors and serotonin release: their role in human platelet aggregation. *Life Sci* 1993;3:209-15.
- Chaouloff F, Elghozi JL, Guezennec Y, Laude D. Effects of conditioned running on plasma, liver and brain tryptophan and on brain 5-hydroxytryptamine metabolism of the rat *Br J Pharmacol* 1985;86:33-41.
- Charney DS, Menkes DB, Heninger GR. Receptor sensitivity and the mechanism of action of antidepressant treatment. Implications for the etiology and therapy of depression. *Arch Gen Psychiatry* 1981;38:1160-80.
- Cheetham SC, Crompton MR, Katona CLE, Horton RW. Brain 5-HT₁ binding sites in depressed suicides. *Psychopharmacology* 1990;102:544-8.
- Chudzik J, Palermo J, Bakish D, Ravindran A, Hrdina PD. Inhibition of platelet 5-HT uptake by phorbol esters and diacylglycerol implicates protein kinase C dependent regulatory mechanisms. Abstracts of 16th Annual Scientific Meeting of CCNP, Montreal, T-11, 1993.
- Cleare A. Reduced whole blood serotonin in major depression. *Depression & Anxiety*; 5:108-111, 1997.
- Coccaro EF, Kavoussi RJ, Sheline YI, Lish JD, Csernansky JG. Impulsive aggression in personality disorder correlates with tritiated paroxetine binding in the platelet. *Arch Gen Psych* 1996; 53: 531.
- Cook EH, Jr, Arora RC, Anderson GM, Berry-Kravis EM, Yan S-Y, Yeon HC, Skielena PJ, Charak Bennett DA, Levanthal I. Platelet serotonin studies in hyperserotonergic relatives of children with autistic disorder. *Life Sci* 1993; 52: 25, 2005-25.
- Coppen A. The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry* 1967; 113:1237-1264.
- Coppen AJ, Shaw DM, Farrell JP. Potentiation of the antidepressant effect of a monoamine oxidase inhibitor by tryptophan. *Lancet* 1963;1:79-81.
- Cooper J, Bloom F, Roth R. *The biochemical basis of neuropsychopharmacology* 7a. Ed. Oxford University Press, Nueva York, 1996.
- Cowen PJ, Charing EM, Fraser LS, Elliott JM. Platelet 5-HT receptor binding during depressive illness and tricyclic antidepressant treatment. *J Affect Disord* 1987;13:45-50.

- Crawford N. In: Picard M, Olichon D, and Gombert J. Determination of serotonin in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography* 341(1985) 445-451.
- Crow TJ, Cross AJ, Cooper SJ: Neurotransmitter receptors and monoamine metabolites in the patients with Alzheimer-type dementia and depression and suicides. *Neuropharmacology*, 23:1.561-1.569, 1984.
- Cuenca E, Coullaut-Jáuregui, López-Muñoz F, Alamo C: Serotonina y depresión. *Psiquiatría Biológica*, 3(2): 53-70, 1996.
- Da Prada M, Cesura AM, Launay JM and Richards JG Platelets as a model for neurones? *Experientia* 44(1988) Birkhäuser Verlag, CH-4010 Basel/Switzerland.
- Dalton S.O. Johauer S.E. y cols: Use of selective serotonin reuptake inhibitors and risk of upper gastrointestinal bleeding. A population-based cohort study. *Arch Intern Med* 163:59-64,2003.
- De Clerck F, Van Nueten JM, Reneman RS. Platelet-Vessel wall interaction: implication of 5-hydroxytryptamine. A review. *Agents Action* 1984; 15: 612-626.
- Delgado PL, Charney ds, price LH, Aghajanian GK, Landis H, Heninger GR, Serotonin function and the mechanism of antidepressant action. *Arch Gen Psychiatry*,1990;47:411-418.
- Delgado PL, Price LH, Heninger GF, Charney DS. Neurochemistry. En Paykel ES, ed. *Handbook of affective disorders*. London: Churchill Livingstone;1992.p219-53.
- D'Hondt P, Maes M, Leysen J, Gommeren W, Scarpe S, Cosyns P. Binding of 3[H]-paroxetine to platelets of depressed patients: Seasonal differences and effects of diagnostic classification. *J Affective Dis*, 32:27-35, 1994.
- Delisi SM, Konopka LM, Óconner FL, Crayton JW. Platelet cytosolic calcium responses to serotonin in depressed patients and controls: Relationship to symptomatology and medication. *Biol Psychiatry*, 43: 327-334, 1998.
- Dillon KA, Gross-Isseroff R, Israeli M, Biegon A. Autoradiographic analysis of serotonin 5-HT_{1A} receptor binding in the human brain postmortem: effects of age and alcohol. *Brain Res* 1991;544-8.
- Dunn EJ, Coote M, Browne G, Steiner M. Biological "markers" in dystimia. *Biol Psychiatry*, 39:526, 1996.
- Ellis PM, Salmond C. Is platelet imipramine binding reduced in depression? A meta-Analysis. *Biol Psychiatry* 1994;36:292-9.
- Elhwuegi AS: Central monoamines and their role in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and biological Psychiatry*. 28(3):435-451, 2004
- Engbaek F and Volbby B. Radioimmunoassay of serotonin (5-Hydroxytryptamine) in cerebrospinal fluid, plasma and serum. *Clin. Chem.*1982;28/4:624-628.
- Erne P, Pletscher A. Rapid intracellular release of calcium in human platelets by stimulation of 5-HT₂ receptors *Br J Pharmacol* 1985;84:545-9.

Fernández Labriola R. Neuroquímica de los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina y su importancia actual en el tratamiento de los estados depresivos Rev. Argentina de Psiquiatría Biológica 1996;Vol. III No 20:16-17.

Ferrier IN, McKeith IG, Cross AJ, Perry EK, Candy JM, Perry RH. Postmortem neurochemistry. Biol Psychiatry 1996;39:1044-50.

Flachaire E, Beney C, Berthier et al. Determination of reference values for serotonina concentration in platelets of healthy newborns, children, adults and elderly subjects by HPLC with electrochemical detection. Clin Chem.1990;36/12:2117-2120.

Franke L, Schewe HJ, Muller B, Campman V, Kitzrow W, Uebelhack R, Berghofer A, Muller-Oerlinghauser B. Serotonin platelet variables in unmedicated patients suffering from major depression and healthy subjects: relationship between 5HT content and 5-HT uptake. Life Sci. 2000;67(3):301-5.

Frattini P, Cucchi ML, Giuseppe Sangostino and Corona GL. A sensitive Fluorometric method for determination of Platelet-Bound and plasma free serotonina. Clin. Chim Acta.1979;92:359-360.

Freeman AM, Stankovic SMJ, Bradley R, Zhang GZ. Tritiated platelet imipramine binding and treatment response in depressed outpatients. Depression !:20-23, 1993.

Frenk J, Lozano R, Gonzalez MA: Economía y Salud: Propuesta para el avance del sistema de salud en México. Fundación Mexicana para la Salud. México, 1999.

Fuks Z, Lanman RC, Schanker IS. On the membrane effects of chlorpromazine: uptake of biologic amines by the blood patients and red cell. Int. J Neuropharmacol. 3:623-633, 1964.

Geaney DP, Shacter M, Elliot JM, Graham-Smith DG. Characterisation of 3-H-lysergic acid diethylamine binding to a 5-hydroxytryptamine receptor on human platelet membranes. Eur J Pharmacol 1984;97:87-93.

Gómez E, Catalán R, Navines R, Gasto C: Alteraciones de los receptores serotoninérgicos en la depresión: evidencias y limitaciones. Actas Esp Psiquiatr, 29(3): 186-194, 2001.

Gómez Gil E, Martínez de Osaba MJ, Gastó Ferrer C. Pruebas neuroendocrinas de función serotoninérgica y estudios en depresión. Psiquiatría Biol.(Barcelona)1996;3:142-51.

Gruart A, Delgado JM, Escobar C, Aguilar-Roblero R. "IV. Llevando el compás de la vida". En el libro: Los relojes que gobiernan la vida. Fondo de Cultura Económica, México, 2002, pp. 45 – 57.

Guicheney P, Human platelet serotonina content: Methodological aspects and physiological variations. Methods find exp clin pharmacology. 1988;10:253-8.

Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness Br J Soc Clin Psychol; 6:278, 1967.

Heinze G., M.I.N.I 5.0.0., 2000. *Mini International Neuropsychiatric Interview*, Spanish and Central American versión/ DSM-IV, Sheehan DV and Lecrubier Y.

- Heninger GR, Charney DS. Mechanism of action of antidepressant treatment. Implications for the etiology and treatment of depressive disorders. En: Meltzer HY, ed. *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. New York: Raven Press; 1987.p.535-43.
- Hindberg I, Naesh O. Serotonin concentrations in plasma and variations during the menstrual cycle. *Clin.Chem.* 1992;38/10:2087-2089.
- Hrdina PD, Bakish D, Chudzik J, Ravindran A, Lapierre YD. Serotonergic markers in platelets of patients with major depression: Upregulation (5-HT₂) receptor. *J Psychiatry Neurosci* 1995;20:11-9.
- Hrdina PD, Demeter E, Vu TB, Sotonyi P, Palkovits M. 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in brain of antidepressant-free suicide victims/depressives: increase in 5-HT₂ sites in cortex and amygdala. *Brain Res.* 1993;614:37-44.
- Hughes CW, Petty F, Sabri S And Gerald L Kramer. Whole-blood serotonin in children and adolescents with mood and behaviour disorders. *Psychiatry Res*; 65: 79-95, 1996.
- Hussain MN and Sole MJ. In: Picard M, Olichon D, and Gombert J. Determination of serotonin in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography* 341(1985) 445-451.
- Iny L , Meaney M, Desjardins P, Nair NPV, Pecknold J, Schwartz G, Quirion R, Suranyi-Cadote B. [³H]imipramine and [³H]paroxetine binding in blood platelets of psychiatric patients and healthy volunteers. *J Psychopharmacol.* 1989; 3: 78-81.
- Jurado N, Torner C, Heinze G, López G, Mendoza-Sotelo, Lazo-Langner and Moreno J. Methodologic pitfalls in measurement of 5-Hydroxytryptamine uptake transporters in human platelets by [³H]Paroxetine binding assay. *Arch of Med Res.* 2003;34:422-427.
- Kanof PD, Coccaro EF, Johns CA, Siever LJ, Davis KL. Platelet [³H]imipramine binding in psychiatric disorders. *Biol. Psychiatry.*1987; 22: 278-286.
- Karege F, Widmer J, Philippe Bovier And Gaillard JM. Platelet serotonin and plasma tryptophan in depressed patients: Effect of drug treatment and clinical outcome. *Neuropsychopharmacology*, 10(3):207-214, 1994.
- Kellum J M, Jaffe B M.in: Picard M, Olichon D, and Gombert J. Determination of serotonin in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography* 341(1985) 445-451.
- Klompener J-L, Frekkes D, Van Hulst AM, Moleman P, Pepplinkhuizen L, Mulde PGH. Seasonal variation in binding of [³H] Paroxetine to blood platelets in healthy volunteers: Indication for a gender difference. *Biol Psychiat.*1990;28:509-517
- Koch D and Kissinger PT. Determination of tryptophan and several of its Metabolites in physiological samples by reversed-phase Liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatography Biomedical Applications.*1979;164:441-455.
- Kremer H.P.H, Goekoop JG, & van kempen GV. Clinical use of the determination of serotonin in whole blood. *J Clin Psychopharmacol*; 10: 83-87, 1990.
- Kugaya A, Sanacora G, Staley JK, Malison RT, Bozkurt A, Khan S, Anand A, Van Dyck CH, Baldwin RM, Seibyl JP, Charney D, Innis RB. Brain serotonin transporter availability predicts treatment response to selective serotonin reuptake inhibitors. *Biol Psychiatry*, 56(7):497-502,2004.

- Kupfer DJ. Marcadores biológicos de depresión. En: Feighner JP, Boyer WE (eds.). *Perspectivas en Psiquiatría Vol. 2*. Wiley & Sons, 1991, pp.99-128.
- Langer SZ, Galzin AM. Studies on the serotonin transporter in platelets. *Experientia*, 44:127-130, 1988
- Langer SZ, Javoy-Agid F, Raciman R, Briley M. Distribution of specific high-affinity binding sites for [³H]-imipramine in human brain. *J. Neurochem*, 37:267-271, 1981
- Lawrence KM, Falkowski J, Jacobson RR and Horton RW. Platelet 5-HT uptake sites in depression: three concurrent measures using ³H-imipramine and ³H-paroxetine. *Psychopharmacology* 1993; 110: 235.
- Lechin F, van der Dijs B, Jara H, Orozco B, Baez S, Benjamin M, Lechin M, Lechin A. Effects of buspirone on plasma neurotransmitters in healthy subjects. *J Neural Transm* 105(6-7): 561 – 573, 1998
- Lee Chin JR. Determination of six indolic compounds, including melatonin, in rat pineal using high-performance liquid chromatography with serial fluorimetric-electrochemical detection. *J chromatography*.1990; 528:11-121.
- Lesch KP, Aulakh CS, Wolozin BL, Tolliver TJ, Hill JL, Murphy DL. Regional brain expression of serotonin transporter mRNA and its regulation by reuptake inhibiting antidepressants. *Brain Res Mol Brain Res*. 1993;17:31-35
- Lowther S, De Parmentier F, Cheetham SC, Crompton MR, Katona CLE, Horton RW. 5-HT_{1A} receptor binding sites in postmortem brain samples from depressed suicides and controls. *J affect Disord* 1997;42:199-207.
- Lucca A, Lucini V, Piatti E, Ronchi P, Smeraldi E. Serum tryptophan levels and serum tryptophan/neutral amino acids ratio in patients with mood disorder, patients with obsessive-compulsive disorder, and normal subjects. *Psychiatry Res* 1992;44:85-91.
- Maes M, Meltzer YH, D'hondt P, Cosyns P, Blockx P. Effect of serotonin precursors on the negative feedback effects of glucocorticoids on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in depression. *Psychoneuroendocrinol* 1995;20:149-167.
- Maes M, Scharpe S, Verkerk R, D'Hondt p, peters D, Cosyns P, Thompson P, De Meyer F, Wauters A, Neels H. Seasonal variation in plasma L-Tryptophan availability in healthy volunteers *Archives of General Psychiatry*, 1995; 52:937-946.
- Maes M, Schotte C, D'Hondt P, Claes M, Vandewoude M, Scharpe S. Biological heterogeneity of melancholia: results of pattern recognition methods. *J Psychiatr Res* 1991;25:95-108.
- Maguire K, Tuckwell V, Pereira A, Dean B, Singh B. Significant correlation between 14C-5-HT uptake by and 3H-paroxetine binding to platelets from healthy volunteers. *Biol Psychiat*. 1993;34:356-360.
- Malison RT, Price LH, Berman R, Van Dyck CH, Pelton GH, Carper L, Sanacora G, Owen MJ, Nemeroff CB, Rajeevan N, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB, Charney DS. Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropane single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry*, 44(11):1090-1098, 1998.

- Malmgren RS, Kjellman BF, Aberg-Wisted A. Platelet serotonergic functions and light therapy in seasonal affective disorders. *Psych Res* 1998; 78:163.
- Mann JJ, McBride PA, Anderson GM, And Mieczkowki TA. Platelet and whole blood serotonin content in depressed inpatients: correlations with acute and life-time psychopathology. *Biol Psychiatry*; 32:243-257, 1992.
- Mann JJ, Stanley M, McBride PA, McEwen BC. Increased serotonin-2 and beta-adrenergic receptors binding in the frontal cortex of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 1986;43:945-59.
- Marazziti D, Rossi A, Palego L, Barsanti A, Carrai M, Giannacchini G, Serra P, Lucacchini A, Cassano GB. Effect of aging and sex on the ³H-paroxetine binding to human platelets. *J Affec Disor* 1998; 50: 11.
- Marcusson JO, Bergstrom M, Eriksson K, Ros SB. Characterization of [³H]paroxetine binding in rat brain *J Neurochem*. 1988; 50:1783-1790.
- Matsubara S, Arora RC, Meltzer HY. Serotonergic measures in suicide brain: 5-HT_{1A} binding sites in frontal cortex of suicide victims. *J Neural Transm* 1991;85:181-94.
- Mauri MC, Ferrara A, Boscati L, Barvin S, Zambelan F, Alecci M. Serum and platelet amino acid concentrations in patients affected by major depression and under fluvoxamine treatment. *Neuropsychobiology* 1998;37:124-9.
- McAdams C, Leonard BE: Changes in platelet aggregatory responses to collagen and 5-hydroxytryptamine in depressed, schizophrenic and manic patients. *Int Clin Psychopharmacol*, 7:81-85, 1992.
- McBride PA, Brown RP, Demeo M, Keilip J, Mieczkowski T, Mann J: The relationship of platelet 5-HT₂ receptor indices to major depressive disorder, personality traits, and suicidal behavior. *Biol. Psychiatry*, 35:295-308, 1994.
- Mc Menamy RH, Lund CC, Oncley JL Unbound aminoacid concentration in human blood plasma *J Clin Invest* 1957; 36:1672-1679.
- Mc Menamy RH, Lund CC, Van Mercke J, Oncley JL. The binding of L-tryptophan in human plasma at 37°C. *Arch Biochem Biophys* 1961;93:135-139.
- Mc Menamy RH, Oncley JL. The specific binding of L-tryptophan to serum albumin, *Journal Biol Chem* 1958;233:1436-1447.
- McBride PA, Brown RP, DeMeo M, Keilip J, Mieczkowski T, MannJJ. The relationship of platelet 5-HT₂ receptors indices to major depressive disorder, personality traitsn and suicidal behaviour. *Biol Psychiatry* 1994;35:295-308.
- Medina-Mora ME, Borges G, Lara C, Benjet C, Blanco J, Fleiz C, Villatoro J, Rojas E, Zambrano J, Casanova L, Aguilar-Gaxiola S. Prevalencia de trastornos metnales y uso de servicios_ Resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental*; 26:1-16, 2004.
- Mellerup E and Langer SZ. Validity of imipramine platelet binding sites as a biological marker of endogenous depression. A world health organization collaborative study. *Pharmacopsychiatry*; 23;113-117, 1990.
- Mellerup ET, Per Plenge and Engelstoff M. High affinity binding of ³H-paroxetine to human platelet membranes. *Eur J Pharmacology* 1983; 96: 303.

Menys VC, Smith CCT, Lewis P Farmer RD, Noble MI. Platelet 5-hydroxytryptamine is decreased in a preliminary group of depressed patients receiving the 5-hydroxytryptamine re-uptake inhibiting drug fluoxetine. *Clin Sci*; 91:87-92, 1996.

Meyer JH, Kapur S, Eisfeld B, Brown GM, Houle S, Dasilva J, Wilson AA, Rafitari S, Mayberg HS And Kennedy SH: The effect of paroxetine on 5-HT_{2A} receptor in depression: an [(18)F]-setoperone PET imaging study. *Am J. Psychiatry*, 158(1):78-85, 2001.

Mikuni M, Kusimi I, Kagaya A, Kuroda Y, Mori H, Takahashi K. Increased 5-HT₂ receptors function as measured by serotonin stimulated phosphoinositide hydrolysis in platelets of depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1991;15:49-61.

Mikuni M, Kagaya A, Takahashi K, Meltzer HY: Serotonin but not norepinephrine-induced calcium mobilisation of platelets is enhanced in affective disorder. *Psychopharmacology*, 106: 311-314, 1992.

Moreno J, Campos MG, Lara C, Torner C La plaqueta como marcador biológico periférico de la función serotoninérgica *Neuronal Salud Mental*; 28(3): 79- 87, 2005

Muck-seler d, Jakovljevic M, AND Deanovic S. Effect of antidepressant treatment on platelet 5-HT content and relation to therapeutic outcome in unipolar depressive patients. *J Affect Disord*; 23: 157-164, 1991.

Muck-seler D, Jakovljevic´ M And Deanovic´Z. Platelet serotonin in subtypes of schizophrenia and bipolar depression. *Psychiatry Res*; 38, 105-113, 1991

Muck-seler D, Jakovljevic´ M And Pivac N. Platelet 5-HT concentrations and suicidal behaviours in recurrent major depression. *J Affect Disord*; 39:73-80, 1996.

Nankai M, Yamada S, Yoshimoto S, Watanabe A, Carrai M, Giannacchini G, Serra P, Lucacchini A, Cassano GB. Effect of aging and sex on the ³H-paroxetine binding to human platelets. *J Affect Disor* 1998; 50: 11.

Nemeroff CB, Knight DL, Krishnan KRR. Reduced platelet [³H]imipramine and [³H]paroxetine binding in major depression. *Soc. Neurosci USA*, abstract 586.4.

Ontiveros MP. Características específicas de la depresión en la mujer. *PAC Psiquiatría-5: La sicopatología en la mujer. Asociación Psiquiátrica Mexicana*. XXXX pp. 525

Ortiz J, Artigas F, and Gelpi E. Serotonin status in human blood. *Life Sci*. 1988; 43, 983-990.

Owen F, Cross AJ, Crow TJ. Brain 5-HT₂ receptors and suicide. *Lancet* 1983;2:2:1256.

Owens MJ, Nemeroff CB. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporters. *Clin Chem*. 1994; 40: 288-295.

Owens MJ, Nemeroff CB: The serotonin transporter and depression. *Depression and Anxiety*, 8 (suppl) 1:5-12, 1998.

Pacheco MA, Stockmeier C, Meltzer HY, Overholser JC, Dilley GE, Jope RS. Alterations in phosphoinositide signalling and G-protein level in depressed suicide brain. *Brain Res*. 1996;723:37-45.

Page IH: The discovery of serotonin. *Perspect Biol Med*, 20:1-8, 1976

- Pandey GN, Pandey SC, Dwivedi Y, Sharma RP, Janicak PG, DAVIS JM: Platelet serotonin-2A receptors: A potential biological marker for suicidal behaviour. *Am. J. Psychiatry*, 152:850-855, 1995 (a).
- Pandey GN, Pandey SC, Janicak PG, Marks RC, Davis JM. Platelet serotonin-2-receptor binding sites in depression and suicide. *Biol Psychiatry* 1990;28:215-22.
- Pandey SC, Davis J, Pandey GN. Phosphoinositide system linked serotonin receptor subtypes and their pharmacological properties and clinical correlates. *J Psychiatry Neurosci* 1995;20:215-25.(b)
- Papakostas GI, Petersen TJ, Farabaugh AH, Murakami JL, Pava JA, Alpert JE, Fava M, And Nierenberg AA. Psychiatric comorbidity as a predictor of clinical response to nortriptyline in treatment-resistant major depressive disorder. *J clin Psychiatry*; 64(11):1357-61, 2003.
- Parbtani A, Cameron JS. Platelet and plasma serotonin concentration in glomerulonephritis. *Thromb. Res.*1979;15:109-125.
- Paul SM, Rehavil M, Skolnick P, Ballenger JC, Goodwin FR. Depressed patients have decreased binding of [³H]-imipramine to the platelet serotonin "transporters". *Arch Gen Psychiatry*, 38:1315-1317, 1981.
- Perry EK, Marshall EF, Blessed G: Decreased imipramine binding in the brains of patients with depressive illness. *Br J Psychiatry*, 142: 188-192, 1983.
- Picard M, Olichon D and Gombert J. Determination of serotonin in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography*.1985;341:445-451.
- Plenge P, Mellerup ET. Antidepressive drugs can change the affinity of ³H-imipramine and ³H-paroxetine binding to platelet and neuronal membranes. *Eur J Pharmacol* 1985; 119: 1.
- Pletscher A. The 5-hydroxytryptamine system of blood platelets: physiology and pathophysiology. *Inter J Cardiol*;1987;14:177-188.
- Purselle DC, Nemeroff CHARLES B: Serotonin Transporter: A potential substrate in the biology of suicide. *Neuropsychopharmacology*, 28:613-619, 2003.
- Pussard E, Guigueno N, Adam O and Giudicelli J-F. Validation of HPLC-amperometric detection to measure serotonin in plasma, platelets, whole blood and urine. *Clin. Chem.* 1996;42/7:1086-1091.
- Quintana J. Platelet serotonin and plasma tryptophan decreases in endogenous depression. Clinical, therapeutic, and biological correlations. *Journal of Affective Disorders*. 1992;24;55-62.
- Raisman R, Briley MS, Langer SZ. High affinity [³H]imipramine binding in rat cerebral cortex. *Eur J Pharmacol*.1979;58, 347-348.
- Rao ML, Hawellek B, Papassotiropoulos A, Deister A, Frahnert C: Upregulation of the platelet serotonin_{2A} receptor and low blood serotonin in suicidal psychiatric patients. *Pharmacopsychiatry*, 38:84-89, 1998.

- Raucoules D, Azorini JM, Barre A, Tissot R. Serum levels and membrane transports in red blood cell of tyrosine and tryptophan in depression. *Encephale* 1991;17:197-201.
- Rehavi M, Paul SM, Skolnick P, Goodwin FK. Demonstration of specific high affinity binding sites for [³H] imipramine in human brain. *Life Sci.* 1980 Jun 30;26(26):2273-9.
- Rosel P Arranz B, Vallejo J, Alvarez P, Menchon JM, Palencia T, Navarro MA. Altered [³H]imipramine and 5-HT₂ but not [³H]paroxetine binding sites in platelets from depressed patients. *J Affect Dis.* 1999;52:225-233.
- Rosel P, Arranz B, Vallejo J, Oros M, Crespo JM, Menchon JM, Navarro MA. Variations in [³H] paroxetina binding sites in suicide brains. *Psychiatry Res* 1998;82:161-70.
- Rosel P, Menchor JM, Oros M, Vallejo J, Cortadellas T, Arranz B, Alvarez P, Navarro MA. Regional distribution of specific high affinity binding sites for [³H]imipramine and [³H]paroxetine in human brain. *J Neural Transm.* 1997;104:89-96.
- Russ MJ, Ackerman SH, Banay-Schwartz M, Shindldecker RD, Smith GP. Plasma tryptophan to large neutral amino acid ratios in depressed and normal subjects. *J Affec Dis* 1990;19:9-14.
- Saltzman AG, Morse B, Whitman M, Ivanschesko Y, Jaye M, Felder S. Clonig of the human serotonin 5-HT₂ and 5-HT_{1c} receptor subtypes. *Biochim Biophys Res Communic* 1991;181:1469-1478.
- Sarrias MJ, Martínez E, Celada P, Udina C, Alvarez E and Artigas F. Plasma free 5HT and platelet 5HT in depression: case-control studies and the effect of antidepressant therapy. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1991;294:653-8.
- Sarrias M J, Artigas F, Martinez E, Gelpi E. Seasonal changes of plasma Serotonin and related parameters: Correlation with Environmental Measures. *Biol Psychiatry* 1989;26:695-706.
- Sarrias MJ, Artigas F, Martínez E, Gelpi E, Alvarez E, Urdina C, Casas M. Decreased plasma serotonin in melancholic patients: a study with clomipramine. *Biol Psychiatr.* 1987; 22:1429-1438.
- Sarrias MJ, Cabré P, Martínez E, Artigas F. Relationship between serotonergic measures in blood and cerebrospinal fluid simultaneously obtained in humans. *J Neurochemistry.* 1990;54:783-786.
- Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 1965;122: 509-522.
- Serres F, Azorin JM, Valli M, Jeanningros R. Evidence for an increase in functional platelet 5-HT₂ receptors in depressed patients using the new ligand[¹²⁵I]-DOI. *Eur Psychiatry* 1999;14:451-7.
- Shaw DM, Camps FE, Eccleston EG: 5-hydroxytryptamine in the hind brains of depressive suicides. *Br J Psychiatry,* 113:1.407-1.411,1967.
- Sheline YI, Bardgett ME, Jackson JL, Newcomer J and Csernansky J. Platelet serotonin markers and depressive symptomatology. *Biol Psychiatry* 1995; 37: 442.
- Shuttelworth DR and Rien JO In: Picard M, Olichon D, and Gombert J. Determination of serotonin in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography* 341(1985) 445-451.

- Siegel G.J Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects, 5^o ed. published by raven Press, Ltd., New York, 1994.
- Sneddon JM. Blood platelets as a model for monoamine-containing neurones. *Progress in Neurobiology*, 1:153-198, 1972.
- Spigset O, Allard P, Mjorndal T. Circannual variations in the binding of [3H] lysergic acid diethylamide to serotonin_{2A} receptors and of [3H]paroxetine to serotonin uptake sites in platelets from healthy volunteers *Biol Psychiatry* 1998;15:43(10):774-780.
- Spincer RL., WILLIAMS, J B.W., And Gibbon M, "Structured Clinical Interview for DSM-III-R-Personality Disorders (SCID-II, 4/1/87)"
- Spreux-Varoquaux O, Gailledreau J, Vanier B, Bothua D, Plas J, Chevalier JF, Advenier C, Pays M, Brion S. Initial increase of plasma serotonin: a biological predictor for the antidepressant response to clomipramine? *Biol Psychiatry*; 1996;40:465-473.
- Spreux-Varoquaux O, Alvarez JC, Berlin I, Batista G, Despierre PG, Gilton A, Cremniter D. Differential abnormalities in plasma 5-HIAA and platelet serotonin concentrations in violent suicide attempters: relationships with impulsivity and depression. *Life Sci*. 2001;69(6):647-57.
- Stain-Malmgren R, Kjellman BF, Aberg-Wistedt A. Platelet serotonergic functions and light therapy in seasonal affective disorder. *Psychiatry Res*, 78: 163-172, 1998.
- Stanley M, Mann JJ. Increased serotonin₂-binding sites in frontal cortex of suicide victims. *Lancet* 1983;i:214-6.
- Stockmeier CA, Shapiro LA, Dilley GE, Kolli TM, Friedman L, Rajkowska G. Increase on serotonin_{1A} autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression. Postmortem evidence for decreased serotonin activity. *J Neurosci* 1998;18:7394-401.
- Strüder HK, Weicker H: Physiology and Pathophysiology of the serotonergic System and its implications on mental and physical performance. Part 1. *Int J Sports Med*, 22:476-481, 2001.
- Sulser F, Vetulani J, Mobley PI. Mode of action of antidepressant drugs. *Biochem Pharmacol* 1978;27:257-61.
- Suranyi-Cadote BE, Iny L, Desjardins P, Jarssa R, Welner S, Decreased density of platelet [³H]imipramine but not [³H]paroxetine binding sites in major depression. *Soc. Neurosci.* 1989; 15:673. Abstract 274-4
- Swade C and Coppen A. Seasonal variations in biochemical factors related to depressive illness. *Journal Affective Disorders*. 1980;2:249-255.
- Tang SW, Morris JM. Variation in human platelet [³H]imipramine binding. *Psychiatry Res*. 1985; 16: 141-146.
- Tiihonen J, Rasanen P, Hakko H. Seasonal variation in the occurrence of homicide in Finland. *Am J Psychiatry* 1997;154:1711-4.
- Tollefson GD, Heiligenstein JH, Tollefson SL, Birkett MA, Knight DL, Nemeroff CB. Is there a relationship between baseline and treatment-associated changes in [³H]-IMI platelet binding and clinical response in major depression: *Neuropsychopharmacology*, 14:47-53, 1996.

Tranzer JP, Da Prada M, Pletscher A. Storage of 5-hydroxytryptamine in megakaryocytes. *J Cell Biol* 1972; 52: 191-197.

Tråskman-Bendz L, Alling C, Alsen M, Regnéll G, Simonsson P. The role of monoamines in suicidal behavior. *Acta Psychiatr Scand* 1993;(Supl 371):45-7.

Tuomisto J, Tukiainen E, Ahlfors UG. Decreased uptake of 5-hydroxytryptamine in blood platelets from patients with endogenous depression. *Psychopharmacology*; 65:141-147, 1979

Van Praag HM. Studies in the mechanism of action of serotonin precursor in depression. *Psychopharmacol Bull* 1984;20:599-602.

Vanags DM, Rodgers SE, Duncan EM, Lloyd JV, Bochner JVL. Potentiation of ADP-induced aggregation in human platelet-rich plasma by 5-hydroxytryptamine and adrenaline. *Br J Pharmacol* 1992;106:917-23.

Vattassery GT, Sheridan MA et al In: Picard M, Olichon D, and Gombert J. Determination of serotonin in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography* 341(1985) 445-451.

Verkes RJ, Fekkes D, Zwinderman AH, Hengeveld MW, Van der Mast RC, Tuyl JP. Platelet serotonin and ³H-Paroxetine binding correlate with recurrence of suicidal behavior. *Psychopharmacology* 1997; 132: 89.

Wang H-Y, Friedman E. Protein Kinase C translocation in human blood platelets. *Life Sci*. 1990;47:1419-1425.

West ED and Dally PJ: Effect of iproniazid in depressive syndromes. *Br Med J*, 1:1491, 1959.

Wirz-Justice A and Richter R. 1979: Seasonality in biochemical determinations: A source of variance and a clue to the temporal incidence of affective illness. *Psychiatry Research*, 1; 53-60.

Wood K, Swade C, Abou-saleh M, Coopen A: Peripheral serotonergic receptor sensitivity in depressive illness. *J Affect Disord*, 7:59-65, 1984.

Yamawaki S, Kagaya A, Okamoto Y, Shimizu M, Nishida A, Uchitomi Y: Enhanced calcium response to serotonin in platelets from patients with affective disorders. *J. Psychol Neurosci*, 21(5):321-324, 1996.

Yates M, Leake A, Candy JM, Fairbairn AF, McKeith IG, Ferrier IN. 5-HT₂ receptor changes in major depression. *Biol Psychiatry* 1990; 27:489-58.

Zanardi R, Artigas F, Moresco R, Colombo C, Messa C, Gobbo C, Smeraldi E AND Fazio F: Increased 5-hydroxytryptamine-2 receptor binding in the frontal cortex of depressed patients responding to paroxetine treatment: a positron emission tomography can study. *J clin Psychopharmacol*, 21:53-58, 2001.

LA PLAQUETA COMO MARCADOR BIOLÓGICO PERIFÉRICO DE LA FUNCIÓN SEROTONINÉRGICA NEURONAL

Julia Moreno*, Ma Guadalupe Campos**, Carmen Lara***, Carlos Torner****

SUMMARY

Among all neurotransmitters, serotonin or 5-hydroxy-tryptamine (5-HT) is probably the most studied in neuropsychopharmacology. Interest in this neurotransmitter is due to cumulative evidences showing that neuronal serotonergic systems are altered in depressed patients, as well as in several behavior dysfunctions like aggressiveness, impulsiveness, and suicide attempts, among others. Also, specific agonists and antagonists have been synthesized, which has enabled the characterization of the serotonergic receptor subtypes. Furthermore, highly selective inhibitors of serotonin uptake have been developed, and these are capable of working in the synaptic terminals, as well as in other cell systems, such as platelets. This has allowed for the understanding and characterization of the action mechanisms of diverse psychoactive drugs interacting with the serotonergic system.

Platelets have been proposed as an outlying model resembling that of serotonergic neurons due to the similarities they present in the uptake, storage, and serotonin release mechanisms, as well as the presence in platelet membranes of serotonin 5-HT_{2A} receptors. The platelets have a serotonergic system consisting of four main components: 1. an uptake mechanism, 2. intracellular storage organelles, 3. serotonergic receptors in the plasmatic membrane, and 4. a mitochondrial enzyme, the monoamine oxidase (MAO), which metabolizes serotonin. All these elements show physiologic similarities with the neuronal serotonergic system.

Serotonergic similarities in neurons and platelets

In the Central Nervous System (SNC) serotonin acts mainly as an inhibitory neurotransmitter. The precursor for its synthesis is the aminoacid tryptophan. This is taken from the blood to the cerebral interstice, where it is taken up by the nervous terminals and converted into 5-hydroxytryptophan (5-HTP) by the enzyme tryptophan hydroxylase. The conversion to 5-HTP is a key regulatory step in serotonin synthesis, and is converted quickly in 5-HT by the action of the aromatic L-acid decarboxilase. However, platelets do not synthesize 5-HT, since they do not

possess tryptophan hydroxylase. Thus they only display uptake, storage, and serotonin release functions.

Serotonin actions

The neurotransmitter functions of neuronal serotonin, generally inhibitory, depend on the serotonergic receptor characteristics it interacts with. Its action mechanism can be mediated through second messengers (metabotropic receptors) or through a direct action over ionic channels (ionotropic receptors). In the platelets, serotonin is stored in a slow replacement depot, where it can be released from by exocytotic mechanisms. Serotonin participates in the platelet activation that allows for their aggregation to each other for blood clotting process.

Serotonin uptake

To stop the serotonin neurotransmitter function, neuronal serotonin is taken up from the synaptic cleft by transporter proteins. The serotonin neuronal uptake is impelled by a proton gradient that requires ATP. The 5-HT uptake can follow two paths: the 5-HT can be metabolized by the MAO into 5-hydroxyindolacetic acid, or it can be reintroduced into release vesicles in order to be reutilized as a neurotransmitter.

The serotonin uptake by platelets occurs either by passive diffusion or by active transport mechanisms. Under physiological conditions, the active uptake mechanism is the most effective. This uptake is mediated by proteins similar to the ones required for the neuronal serotonin uptake in the brain. It requires energy and the presence of Na⁺ and Cl⁻. The platelet uptake system has a relatively high affinity (K_d) for 5-HT, being similar in magnitude from platelets to neurons. The platelet storage of 5-HT is located mainly in the dense bodies and in the storage granules.

Serotonin transporters in platelets and synaptic terminals

The main form of ending a serotonergic transmission pulse is by taking up 5-HT molecules from the synaptic cleft directed to reduce the serotonin concentration, which then stops the serotonergic neurotransmission.

The uptake process involves a molecular recognition of 5-HT by the transporter, its binding, and passing through the membrane to be released within the cellular. Serotonin molecules bound to

* División de Servicios Clínicos, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Hospital General, Centro Médico La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) México Distrito Federal

** Unidad de Investigación Médica en Farmacología (UIMF), Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), México, D.F.

*** Servicios Clínicos, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

**** Departamento de Atención a la Salud, CBS Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México D.F.

Correspondencia: QFB Julia Moreno, Laboratorio Clínico, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Calzada México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, 14370, México D.F. Teléfono: 56552811 ext. 311. e-mail: moreno@imp.edu.mx

Recibido primera versión: 22 de septiembre de 2004; segunda versión: 26 de enero de 2005. Aceptado: 3 de marzo de 2005.

its transporter protein cross through the membrane using Na^+ as a driving force. The return of the transporter to its original position requires K^+ as the driving force to step this protein toward its original position. When a selective serotonin reuptake inhibitor is administered, the 5-HT concentration increases in the synaptic cleft, which enhances serotonin neurotransmission. This increase induces a down regulation cascade of both: serotonin autoreceptors (presynaptic) and postsynaptic receptors, that may finally reestablish the resting state of the neuron.

It has been confirmed that the protein for neuronal as well as platelet serotonin uptake transport are synthesized by the same gene. Experimental evidence has shown that the platelet transporter presents the same functional and pharmacological characteristics than the neuronal transporter.

Serotonergic receptors

Seven types of pre and post synaptic serotonin receptors, which have also several subtypes, have been characterized.

Pre and post synaptic 5-HT₁ receptors. The 5-HT₁ receptors are involved in both pre and post synaptic serotonergic neurotransmission. The presynaptic 5-HT_{1A} receptors are autoreceptors. Due to their localization in the cellular body and in the dendrites, they have been named somatodendritic autoreceptors, which control the serotonin release. The postsynaptic receptors may play a role in hypothalamic thermoregulation. The presynaptic 5-HT_{1D} receptors are autoreceptors that perform a regulation by blocking the 5-HT release. These receptors are not synthesized in platelets.

Postsynaptic 5-HT₂ receptors. The 5-HT₂ receptor subtypes are 5-HT_{2A, B and C}. When postsynaptic 5-HT_{2A} receptors are bound to serotonin, they drive the transduction of neuronal impulses through the production of second messengers within the postsynaptic neuron. These second messengers induce the synthesis of intracellular proteins denominated transcription factors, which may regulate the expression of several neuronal genes. Platelet 5-HT_{2A} receptors correspond to the neuronal 5-HT_{2A} metabotropic receptors and induce alterations in platelet density and affinity.

5-HT₃ receptors. These receptors were originally described in the periphery, specifically as part of the enteric nervous system. In the CNS 5-HT₃ receptors are densely present in the solitary tract nucleus and in the area postrema. These receptors are the only monoaminergic receptors consisting of ionic channels operated by aminergic neurotransmitters. The stimulation of 5-HT₃ receptors is responsible of several secondary effects of the selective inhibitors of serotonin reuptake (SISR). These effects are not mediated only in the CNS, but also in sites outside the brain, such as the intestine, which possess this type of receptors also. These receptors are not located in the platelets.

5HT_{4,7} serotonergic receptors. These receptors are distributed throughout the body, where they stimulate the alimentary tract secretions and facilitate peristaltic reflexes. Their localization in serotonergic areas in the brain and platelets has not been established.

Notwithstanding their limitations, the characteristics reviewed support the conclusion that platelets can be used as partial models to study the neuronal serotonin 5-HT₂ binding and uptake functions. As Alfred Pletscher stated: "although the incomplete of the pattern demands care in its application, they could have the advantage of the relative simplicity".

Key words: Depression, serotonin, 5-hydroxy-indoleacetic acid, platelets.

RESUMEN

De todos los neurotransmisores, la serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) muy probablemente ha sido la más estudiada en la neuropsicofarmacología. El interés por este neurotransmisor se debe a la evidencia de la alteración de los sistemas serotoninérgicos en pacientes deprimidos, así como en varios trastornos de conducta, como la agresividad, la impulsividad y los intentos de suicidio.

Las plaquetas se han propuesto como un marcador biológico periférico del funcionamiento de las neuronas serotoninérgicas centrales debido a las similitudes que comparten en los mecanismos de captura, almacenamiento y liberación de serotonina, y a que los receptores 5-HT_{2A} están presentes en las membranas de ambos tipos celulares. El sistema serotoninérgico de las plaquetas tiene cuatro componentes principales: 1. un mecanismo de captura, 2. organelos de almacenamiento intracelular, 3. receptores serotoninérgicos en la membrana plasmática, y 4. una enzima mitocondrial para su metabolismo (la monoaminoxidasa, MAO). Todos estos elementos tienen similitudes fisiológicas y fisiopatológicas con el sistema serotoninérgico neuronal.

En el Sistema Nervioso Central (SNC), la 5-HT actúa de manera predominante como un neurotransmisor de tipo inhibitorio. El triptófano, precursor para su síntesis, es convertido por la triptófano hidroxilasa en 5-hidroxitriptófano (5-HTP), el cual a su vez se transforma rápidamente en 5-HT por la acción de la L-ácido aromático descarboxilasa. Sin embargo, las plaquetas no poseen triptófano hidroxilasa, por lo cual no sintetizan 5-HT y sólo pueden tener funciones de captura, almacenamiento y liberación de 5-HT.

La liberación de serotonina por las neuronas cumple funciones de neurotransmisor, mientras que la serotonina plaquetaria es una reserva de lento recambio que puede ser liberada de las plaquetas por exocitosis, y participa en la activación de las plaquetas, lo que facilita su agregación en el proceso de coagulación.

Para terminar la señal neurotransmisora en el SNC, la serotonina es capturada del espacio sináptico por un sistema proteico impulsado por un gradiente de protones que consume ATP. La 5-HT recapturada puede seguir dos rutas: ser degradada por la MAO a ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) o puede ser introducida en las vesículas secretoras para ser nuevamente liberada al espacio sináptico.

La captura de 5-HT por las plaquetas ocurre de dos maneras: por difusión pasiva y por un mecanismo activo. El mecanismo activo está mediado por una proteína similar al transportador de 5-HT neuronal, que requiere de energía y de la presencia de Na^+ y Cl^- . Este sistema plaquetario de captura tiene un grado de afinidad similar al del sistema neuronal. Hay evidencia experimental de que la proteína transportadora de serotonina del cerebro y las plaquetas, está codificada por el mismo gen, y el transportador plaquetario tiene además las mismas características funcionales y farmacológicas que el transportador neuronal.

Receptores serotoninérgicos

Los receptores 5-HT_{1A} presinápticos son autorreceptores somatodendrícos. Ejercen un control inhibitorio de la liberación de serotonina y, por lo mismo, cuando disminuye su efecto por una regulación a la baja (*down regulation*), se produce un aumento de la liberación de serotonina. Los receptores 5-HT₁ postsinápticos desempeñan un papel en la termorregulación corporal. Los autoreceptores 5-HT_{1D} presinápticos actúan como reguladores de la liberación de 5-HT, bloqueando la liberación de 5-

HT. Estos receptores no se encuentran en las plaquetas.

Receptores postsinápticos 5-HT₂

Tienen varios subtipos: 5-HT_{2A, B, C}; son glucoproteínas y han sido caracterizados por medio de la identificación del código genético del cADN de estos receptores. Cuando el receptor 5-HT_{2A} postsináptico es ocupado por la serotonina, provoca la producción de segundos mensajeros, los que estimulan la síntesis de proteínas intracelulares denominadas factores de transcripción; éstas regulan a su vez la expresión de varios genes neuronales. Aunque se ha propuesto que en las membranas plaquetarias los receptores 5-HT_{2A} corresponden a los receptores 5-HT_{2A} metabotrópicos, las alteraciones de densidad y afinidad, su respuesta a segundos mensajeros, y su implicación en la neurotransmisión, no han podido explicarse bien mediante el modelo plaquetario.

Los receptores 5-HT₃ son los únicos receptores de monoaminas que funcionan como canales iónicos. Estos receptores se sitúan sobre terminaciones parasimpáticas en el tubo digestivo, y en el SNC se encuentran con gran densidad en el núcleo del haz solitario y en el área postrema. Son responsables de varios efectos secundarios de los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) en el SNC, así como en el intestino y otras regiones donde se encuentran estos receptores. No se localizan en las plaquetas.

Subpoblación 5-HT_{4,7}

Se encuentran distribuidos por todo el cuerpo. Estimulan las secreciones del tubo digestivo y facilitan los reflejos peristálticos del mismo. No se ha explorado su participación en la neurotransmisión y su disfunción en trastornos depresivos.

Estas características han llevado a proponer a las plaquetas como modelos parciales para el estudio de la serotonina neuronal. Como Alfred Pletscher expresó: "si bien lo incompleto del modelo exige cuidado en su aplicación, podría tener la ventaja de la simplicidad relativa".

Palabras clave: Depresión, serotonina, ácido 5-hidroindolacético, plaquetas.

INTRODUCCIÓN

La serotonina se llamó inicialmente "enteramina" debido a que se aisló de las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal. En 1976, Page y cols. fueron los primeros en aislar y caracterizar químicamente una sustancia vasoconstrictora liberada por las plaquetas de sangre coagulada. La sustancia aislada del torrente sanguíneo recibió el nombre de serotonina, por ser una "sustancia en el suero que aumenta el tono de los vasos". La caracterización posterior de la serotonina y de la enteramina mostró que eran la misma molécula.

El interés por la serotonina (5-hidroxi-triptamina, 5-HT) en psiquiatría deriva de la demostración de que la dietilamida del ácido lisérgico (LSD, agonista serotoninérgico) causaba profundos efectos sobre el estado de ánimo y la conducta, además de estados alucinatorios. Por otro lado, los médicos que trataban

a los pacientes tuberculosos con iproniazida (medicamento antituberculoso inhibidor de la enzima monoamino oxidasa; IMAO) encontraron que incrementaba la concentración tisular de serotonina, lo que se correlacionaba con la mejoría del estado de ánimo de los pacientes (West, 1959).

Al inicio de la década de 1950, se encontró que la reserpina, utilizada como agente antihipertensivo, disminuía las reservas celulares de monoaminas, incluida la 5-HT, lo que se correlacionaba con la depresión como efecto secundario. En ese tiempo aún se desconocía si la 5-HT era un compuesto cerebral endógeno. Sin embargo, diversos métodos de bioensayos y espectrofluorimetría desarrollados en esa década mostraron concentraciones mayores de serotonina en áreas específicas del cerebro de los mamíferos. Adicionalmente, los estudios de histofluorescencia hacia la mitad de la década de 1960, mostraron las vías que contenían monoaminas en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Owens y Nemeroff, 1994).

El interés actual por el papel de la 5-HT en psiquiatría se debe a tres factores relacionados: a) la existencia de suficientes evidencias para apoyar la tesis de que los sistemas serotoninérgicos se encuentran alterados en pacientes con depresión; b) los extraordinarios progresos en la clonación de los subtipos del receptor 5-HT y la síntesis de agonistas y antagonistas selectivos para los diversos subtipos de receptores serotoninérgicos, y c) la síntesis y el desarrollo de compuestos altamente selectivos para inhibir la recaptura de 5-HT, tanto en las terminales nerviosas como en otras células que tienen transportador de captura de 5-HT (como las plaquetas). Todo esto ha permitido estudiar los mecanismos de acción serotoninérgicos en el efecto antidepresivo.

La evidencia indica que, en el SNC, la 5-HT actúa principalmente como un neurotransmisor de tipo inhibitorio. El triptófano es el precursor para la síntesis de 5-HT; es transportado de la sangre al cerebro, donde es tomado por las terminales nerviosas y convertido por la triptófano hidroxilasa en 5-hidroxitriptófano (5-HTP), que es el paso limitante para la síntesis de serotonina. A su vez, el 5-HTP es convertido rápidamente en 5-HT por la acción de la descarboxilasa de ácidos aromáticos.

Después de ocurrir la liberación fisiológica de la 5-HT por las terminales sinápticas, la 5-HT presente en el espacio sináptico debe ser eliminada. El mecanismo es la recaptura por la misma terminal sináptica que la liberó, mediante la proteína transportadora de 5-HT, y se almacena en las vesículas sinápticas donde permanece hasta su siguiente liberación, o bien puede ser degradada al metabolito: ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) por la enzima monoamino-oxidasa (MAO).

La serotonina también se ha encontrado en altas concentraciones en las plaquetas, y dado que éstas y las neuronas comparten similitudes genéticas, bioquímicas y moleculares, se ha propuesto a las plaquetas como un modelo que puede reflejar algunas condiciones del sistema serotoninérgico neuronal (Paasonen, 1965; Pletscher, 1968), lo que permitiría considerar algunos parámetros serotoninérgicos plaquetarios como marcadores de trastornos psiquiátricos, particularmente de la depresión. Sin embargo, a la fecha, la utilidad de las plaquetas como un marcador biológico de la depresión sigue siendo controvertida. Por tal motivo, en este trabajo se presenta una revisión de varios de los aspectos fisiológicos del sistema serotoninérgico y su posible participación en la fisiopatología de la depresión.

ANTECEDENTES

El uso de las plaquetas como un sistema experimental para la neurofarmacología y psicofarmacología, se inició con los estudios sobre la reserpina. Este fármaco se empleaba en el tratamiento de las psicosis y se encontró que causaba una depleción marcada de la 5-HT en el cerebro de conejos (Pletscher, 1956). Como ya se había reportado inicialmente que las plaquetas contenían 5-HT, se buscó dilucidar el modo de acción de la reserpina en estas células sanguíneas. Se encontró que la reserpina causaba una disminución de la concentración plaquetaria de 5-HT relacionada con su liberación (Paasonen, 1959). Por otro lado, se encontró que varios fármacos sintéticos no relacionados con los alcaloides de la Rauwolfia, pero que causaban una disminución de la 5-HT cerebral, también disminuían la serotonina de las plaquetas (Paasonen y Pletscher, 1959). Esto mostró que el mecanismo de acción de los fármacos capaces de producir alteraciones en las neuronas serotoninérgicas, también las producen en las plaquetas.

CUADRO 1. Comparación entre plaquetas y neuronas serotoninérgicas (Da Prada 1988 y Strüder, 2001)

	Neuronas	Plaquetas
Transporte activa para serotonina	+	+
Receptores 5-HT _{2A}	+	+
Sitios de unión α ^{2A}	+	+
Almacenamiento subcelular de 5-HT en vesículas	+	+
MAO tipo B	+	+
Biosíntesis de 5-HT	+	-
Transportador de 5-HT en la membrana plasmática	+	+
Transportador de 5-HT en la membrana vesicular	+	+
Enzima neuronal específica	+	+
Unión de serotonina a proteínas	+	-
Vesículas secretorios de serotonina	+	-

Las plaquetas tienen un sistema serotoninérgico que consiste en cuatro componentes principales: 1. un mecanismo de captura 2. organelos de almacenamiento intracelular, 3. receptores de 5-HT en la membrana plasmática, y 4. una enzima metabolizadora mitocondrial (MAO). Todos estos elementos muestran similitudes fisiológicas y fisiopatológicas con el sistema serotoninérgico neuronal.

SIMILITUDES ENTRE LAS PLAQUETAS Y LAS NEURONAS SEROTONINÉRGICAS

Las similitudes y diferencias entre las plaquetas y las neuronas serotoninérgicas se presentan en el cuadro 1. La principal diferencia radica en la falta de un mecanismo enzimático plaquetario para la síntesis de serotonina, lo que indica que toda la serotonina de las plaquetas proviene de fuentes externas.

CAPTURA DE 5-HT

La captura de 5-HT por las plaquetas ocurre tanto por difusión pasiva como por un mecanismo activo; en condiciones fisiológicas este último es más efectivo. La captura activa depende de energía y de la presencia de Na⁺ y Cl⁻. Es saturable y sigue una cinética tipo Michaelis-Menten, lo que sugiere que está mediada por un transportador protéico-enzimático saturable, similar al del sistema neuronal de captura de serotonina (Pletscher 1987). El sistema de captura plaquetario tiene una afinidad relativamente alta para la 5-HT, siendo del mismo orden que el de las neuronas (los valores encontrados en las K_m están entre 10⁻⁸ y 10⁻⁷ M). Este mecanismo de captura es saturable y de alta afinidad. También es capaz de transportar dopamina y noradrenalina, aunque con mucho menor afinidad (por la dopamina y la noradrenalina muestra afinidades de: K_m > 10⁻⁵ M y > 10⁻⁴ M, respectivamente), lo que significa que el mecanismo plaquetario de captura de 5-HT no tiene las características de alta afinidad reportados para dopamina y noradrenalina en terminales sinápticas (Linjaerde y cols., 1981; Malmgren y cols., 1984; Malmgren y cols., 1986); esto demuestra la especificidad plaquetaria para la captura de serotonina.

Por otro lado, varios antidepresivos típicos y atípicos inhiben la captura de 5-HT tanto en plaquetas como en terminales sinápticas aisladas. Los estudios en los cuales se han comparado diferentes clases de antidepresivos (fluoxetina, clorimipramina, imipramina, desipramina, paroxetina, citalopram, entre otros) respaldan el hecho de que la plaqueta puede ser un modelo capaz de reflejar el sistema neuronal de captura de serotonina.

Para la serie de inhibidores de captura de serotonina estudiados, se ha obtenido una buena correlación entre los valores de IC_{50} para la inhibición de la captura de serotonina en plaquetas humanas, con los valores de IC_{50} para la inhibición de la captura de serotonina de las terminales sinápticas del cerebro de rata. Además, las plaquetas son capaces de predecir la efectividad clínica de los antidepresivos bloqueadores de captura de serotonina, dependiendo de la potencia de su efecto en preparaciones de membrana de plaquetas (sinaptosomas) (Da Prada y cols. 1988). Más aún, la secuencia encontrada de aminoácidos de las proteínas transportadoras de recaptura, tanto en neuronas como el de plaquetas humanas, sugiere que están codificados en el mismo gen (Lesch y cols., 1993 a, b).

ALMACENAMIENTO DE 5-HT EN PLAQUETAS

El almacenamiento intracelular de 5-HT ocurre principalmente en organelos específicos (cuerpos densos y gránulos de almacenamiento) diferentes de los gránulos alfa (Da Prada y cols., 1972). Hay evidencia de que la 5-HT entra pasivamente en los organelos de almacenamiento a causa de un gradiente transmembranal electroquímico, pero con ayuda de un facilitador membranal.

Una vez dentro de los organelos, la 5-HT se une reversiblemente a los nucleótidos intraorganelares (ATP y ADP), los cuales junto con cationes bivalentes (Ca^{++} y Mg^{++}), tienen concentraciones relativamente altas dentro de los organelos de almacenamiento. El recambio fisiológico parece ser muy bajo y la mayor parte de la 5-HT almacenada permanece en las plaquetas. Sin embargo, la 5-HT puede ser liberada de las plaquetas por exocitosis, lo que ocurre por estimulación por agentes activadores de las plaquetas, como la trombina, el colágeno, el ADP y la adrenalina (Pletscher, 1987). La serotonina liberada puede participar en la activación de más plaquetas durante el proceso de coagulación.

SÍNTESIS, ALMACENAMIENTO VESICULAR Y LIBERACIÓN DE SEROTONINA

La captura de triptófano (TRP) por las terminales nerviosas se efectúa mediante difusión facilitada. Dentro de las células, éste es catalizado por la triptófano hidroxilasa hacia 5-hidroxi-triptófano (5-HTP), que es convertido a serotonina por una descarboxilasa (figura 1). Ambas enzimas son sintetizadas en el núcleo y llevadas a la terminal sináptica por un transporte axonal lento, donde sintetizarán la serotonina dependiendo de su requerimiento (Boadle-Biber, 1993; Marsden, 1979). La captura de serotonina por las vesículas de almace-

namiento presináptico es mediada por un gradiente de protones (H^+) que consume ATP (Johnson, 1988; Marshall y Parsons, 1987). Después de la transformación de las vesículas de almacenamiento en vesículas secretoras, las cuales se encuentran adheridas a la membrana presináptica, éstas van a liberar la serotonina en la hendidura sináptica (Rudnick, 1993). El efecto de la señal serotoninérgica de la presinapsis a la postsinapsis depende del tipo de receptor sobre el cual actúe la serotonina (véase más adelante) (figuras 1a, 1b).

La liberación de serotonina de las terminales nerviosas puede ser regulada por los autorreceptores presinápticos 5-HT_{1A,B,D}, de los cuales los 5-HT_{1A} son los más potentes; su activación por la 5-HT deriva en una hiperpolarización de la membrana sináptica, lo que a su vez produce una reducción del impulso para la liberación sináptica de 5-HT.

La disfunción de la liberación sináptica de 5-HT puede deberse a varias causas, las cuales pueden a su vez derivar en sintomatología psiquiátrica, como los cuadros depresivos. Se ha sugerido que en sujetos propensos a la depresión prevalece una isoenzima de la TRP hidroxilasa que tiene menor actividad que la de sujetos sanos, por lo que tendrían menor tasa de síntesis de serotonina. Pero hay otros factores que también pueden afectar la síntesis de serotonina y su almacenamiento en las terminales sinápticas (Strüder y Weicker, 2001).

TRANSPORTADOR DE SEROTONINA EN LA MEMBRANA PLASMÁTICA DE LAS PLAQUETAS Y LAS TERMINALES AXÓNICAS SEROTONINÉRGICAS

La forma principal para que las neuronas terminen la transmisión de un pulso serotoninérgico es por medio de la captura de las moléculas de 5-HT por la proteína transportadora, para reducir la concentración de 5-HT del espacio sináptico. Tanto los antidepresivos tricíclicos como los nuevos inhibidores selectivos de la recaptura de 5-HT (ISRS) se unen al transportador de 5-HT para inhibir su función de recaptura. Blakely y cols. (1991) y Hoffman y cols. (1991), reportaron simultáneamente la caracterización de las proteínas transportadoras de 5-HT del cerebro de rata. Más recientemente, varios grupos (Blakely, 1992; Hoffman y cols., 1991; Lesch y cols., 1993 a, b) aislaron los cADN que codifican la síntesis de los transportadores de serotonina, que en humanos se localizan en el cromosoma 17. La secuencia del transportador humano muestra una homología de 92% con el transportador de la rata. Lesch y cols. (1993, b), han confirmado que los transportadores de serotonina del cerebro son iguales a los de las plaquetas en humanos, y hasta el momento un solo gen parece codificar la sín-

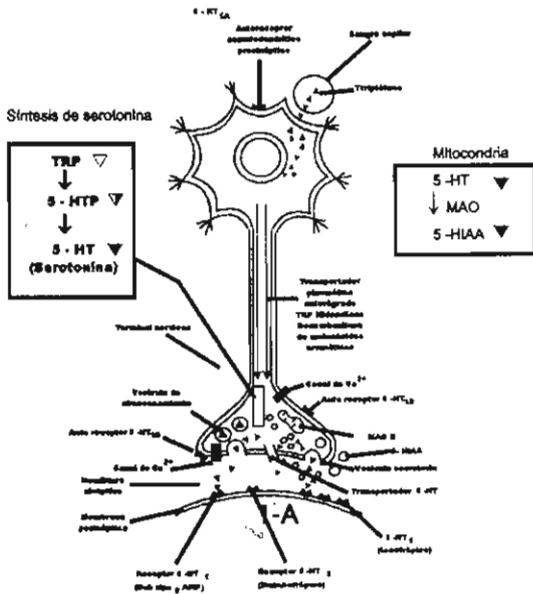


Fig. 1-A. Sinapsis y la neurona serotonérgica. Las neuronas sintetizan las enzimas que serán los que sintetizan a su vez la serotonina en las terminales sinápticas; estas enzimas serán llevadas a la terminal por medio del transporte axonal. En la terminal sináptica, el triptófano libre es convertido en serotonina y ésta es almacenada en las vesículas. La 5-HT que no es almacenada en vesículas es degradada por la MAO mitocondrial a 5-HIAA. Los transportadores serotonérgicos realizan la captura de 5-HT desde la hendidura sináptica. Los autorreceptores presinápticos 5-HT_{1A} disminuyen la liberación de 5-HT de las terminales sinápticas por la reducción de la frecuencia de impulso de 5-HT después de la hiperpolarización de la membrana, debido a la estimulación de los canales de K⁺ por la proteína G_i. Además, en un mediano plazo disminuye la síntesis de 5-HT al reducir la velocidad del transporte anterógrado del soma o la terminal sináptica.

Los receptores postsinápticos 5-HT_{1A} no tienen función de autorreceptores; trabajan en combinación con los subtipos de los receptores 5-HT₂, que son responsables de la actividad postsináptica con sistema de segundos mensajeros, lo que influye sobre el recambio de fosfolípidos. Los receptores 5-HT₂ son receptores ionotrópicos que permean la entrada de sodio.

tesis de la proteína transportadora. Sin embargo, Ramamoorthy y cols. (1993) observaron una hibridación múltiple del ARNm en la placenta y en el pulmón humanos, lo que sugiere un procesamiento alternativo (*splicing*) y la producción de diferentes ARNm.

Los estudios bioquímicos y farmacológicos mostraron que el proceso de captura implica el pegado de la 5-HT a un dominio de reconocimiento del transportador, que cruza la membrana junto con el ión Na⁺. El regreso del transportador a su configuración original en la membrana involucra el paso de un ión K⁺ hacia el exterior de la célula. En estudios recientes ha sido cada vez más claro que los inhibidores selectivos de la recaptura, como la paroxetina, el citalopram y la fluoxetina, se unen al mismo sitio o se superponen muy cerca del sitio del transporta-

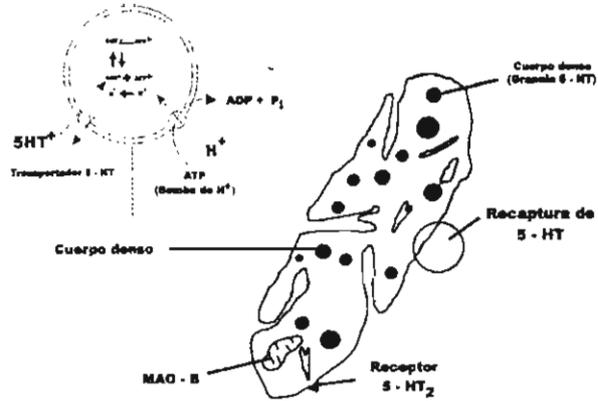


Fig. 1-B. Sistema serotonérgico en plaquetas sanguíneas. Las plaquetas, en comparación con las neuronas serotonérgicas, sólo tienen función de almacenamiento de 5-HT, dado que no poseen triptófano hidroxilasa, y por ella no sintetizan serotonina. El receptor 5-HT_{2A} tiene similitudes biológicas con el receptor postsináptico 5-HT_{2A}. (Ca = calcio, MAO B = monoamino-oxidasa b, TRP = triptófano, 5-HIAA = ácido 5-hidroxi-Indol hidroxilindolacético, 5-HT = 5-hidroxitriptamina (serotonina), 5-HTP = 5-hidroxitriptófano). (Modificada de Pletcher 1987 y Strüder 2001).

dor de serotonina con la serotonina misma (Backstrom, 1989; Graham, 1989; Graham, 1992; Mann, 1992).

RECEPTORES

Subgrupos de receptores 5-HT

En comparación con la función de los transportadores de serotonina (5-HTT), la función de los diversos receptores 5-HT presinápticos y postsinápticos y su impacto en la neurotransmisión serotonérgica ha sido menos estudiada. Se ha logrado caracterizar las secuencias de los cADN para la mayoría de los receptores de 5-HT y, por lo mismo, sus secuencias de aminoácidos. Además, se han encontrado ligandos específicos para varios receptores, y se han estudiado los sistemas transductores, segundos mensajeros y las señales de regulación intracelular (Fargin y cols., 1988; Heuring y Peroutka, 1987; Kennett, 1997; Martin y cols., 1994; Monferini y cols., 1993).

Subgrupos de receptores 5-HT₁, pre y post sinápticos

Los receptores 5-HT₁ contienen aproximadamente 450 aminoácidos; pertenecen a la superfamilia de receptores con siete segmentos transmembranales y una estructura alfa-helicoidal, y se relacionan con el sistema de proteínas G. Los receptores presinápticos 5-HT_{1A} tienen una configuración estructural similar a los β₂ adrenoreceptores humanos, con homología cercana a 45% en su secuencia de aminoácidos (Fargin y cols., 1988). Los subgrupos de receptores 5-HT_{1A, B, D, E, y F} participan en la neurotransmisión serotonérgica sináptica. Sin embargo, los subtipos del 5-HT_{1A, B y D}

también son autorreceptores presinápticos que regulan la liberación de serotonina. Los receptores 5-HT_{1A} presinápticos son autorreceptores y, por su localización en el cuerpo celular y en las dendritas, reciben el nombre de autorreceptores somatodendríticos.

Recientes estudios clínicos, farmacológicos y neurofisiológicos se han enfocado en estos receptores presinápticos 5-HT_{1A} que prevalecen en los núcleos del rafe, y que disminuyen la liberación de 5-HT de las terminales nerviosas. Su activación produce la inhibición de la adenilato ciclasa, lo que disminuye la formación de cAMP, que a su vez hiperpolariza la membrana presináptica mediante la apertura de canales de K⁺. Este mecanismo produce la reducción de la liberación de 5-HT dependiente de Ca²⁺ de las vesículas secretoras hacia el espacio sináptico (Albert y cols., 1990; Lembo, 1995). Para los autorreceptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{1D} presinápticos, localizados en la membrana sináptica, no se ha sido descrito el mecanismo.

Receptores postsinápticos 5-HT₂ y su respuesta a segundos mensajeros

Los subtipos de receptores metabotrópicos 5-HT₂ se han caracterizado por medio de la secuenciación del cADN. La secuencia contiene de 460 a 480 aminoácidos según la especie. En contraste con los receptores 5-HT₁, todos los subtipos de RNAm de los receptores 5-HT₂ poseen intrones y exones que se tienen que procesar postranscripcionalmente para formar una molécula de RNAm funcional.

Los subtipos de receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} son glucoproteínas que tienen una estructura peptídica con varias cadenas glucosiladas; consisten en aproximadamente 470 aminoácidos en los humanos (Baldwin, 1995). Poseen siete segmentos membranales y se acoplan a sistemas de segundos mensajeros (metabotrópicos).

A diferencia de los subtipos de receptores 5-HT_{1A}, los receptores 5-HT₂ han sido localizados postsinápticamente en diferentes áreas serotoninérgicas centrales, como los núcleos del rafe, la corteza frontal, el hipocampo, el hipotálamo, y la amígdala, así como en las plaquetas (Harrington y cols., 1992; Struder y Weicker, 2001). La sensibilidad de los receptores 5-HT₂ es fisiológicamente más alta que la de los receptores presinápticos y postsinápticos 5-HT₁ y aumenta en individuos con trastornos mentales, según Struder y Weicker (2001). El sistema de segundos mensajeros de los receptores 5-HT₂ se ha encontrado en el sistema límbico, el hipocampo y en áreas relacionadas con la regulación del comportamiento, el estado de ánimo y la fatiga. Participan en la neurotransmisión serotoninérgica, pero también interactúan con los sistemas noradrenérgico y dopaminérgico en el cerebro, e influyen en la secreción de neuropéptidos; por ejemplo, la prolactina (PRL) y hormonas liberadoras

hipotalámicas como el factor liberador de corticotropina (CRF).

Cambios que incrementasen la transducción de la señal serotoninérgica, como un posible aumento de la fosforilación de proteínas, podrían dar lugar a alteraciones en la neurotransmisión capaces de causar a su vez modificaciones en el comportamiento, el estado de ánimo, el sueño, la regulación del apetito, así como incrementar la fatiga. Además, pueden provocar el déficit cognitivo encontrado en pacientes deprimidos.

Los receptores 5-HT₃

El receptor 5-HT₃ es el único receptor de monoaminas que funciona como canal iónico (ionotrópico). Este tipo de receptores se sitúa en las terminaciones parasimpáticas del tubo digestivo, incluidas las vías nerviosas vagales y esplánicas. En el SNC, los receptores 5-HT₃ se han encontrado densamente en el núcleo del haz solitario y en el área postrema. Por su estructura y su función se parecen al canal iónico de los receptores nicotínicos de la placa motora del músculo esquelético.

Aunque aún no se establecen las implicaciones de la disfunción de los receptores 5-HT₃ en los trastornos mentales, antagonistas 5-HT₃, como el ondansetron, mitigan la náusea provocada por la radioterapia del tratamiento antineoplásico. Jørgensen y cols. (1992) reportaron que los receptores 5-HT₃ ionotrópicos participan con los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT₂ en la mediación de la respuesta de prolactina a la serotonina y al 5-hidroxi-triptófano (5-HTP).

Subpoblación 5-HT_{4,7}

Estos receptores se distribuyen por todo el cuerpo. En el SNC se encuentran en las neuronas de los tubérculos cuadrigéminos anteriores y posteriores, y en el hipocampo. En el tubo digestivo, los receptores 5-HT₄ se encuentran en el plexo mientérico, el músculo liso y las células secretoras. Parece que estos receptores son capaces de estimular las secreciones del tubo digestivo y facilitar los reflejos peristálticos del mismo. Activan la adenilato ciclasa, lo que incrementa las concentraciones de cAMP. El receptor 5-HT₄ todavía no ha sido clonado y no está definido su mecanismo de transducción, y tampoco su función en los sistemas serotoninérgicos. Lo mismo sucede con los receptores 5-HT_{5A} y 5-HT_{5B}, los cuales hasta ahora sólo se han encontrado en ratas y ratones. También en ratas y ratones se clonaron los receptores 5-HT₆. Todos estos receptores activan la adenilato ciclasa con el consecuente incremento del AMP cíclico. Su localización presináptica o postsináptica en las áreas serotoninérgicas predominantes del cerebro, y su implicación en la neurotransmisión y disfunción en trastornos depresivos, no han sido caracterizados aún (Struder y Weicker, 2001).

TÉCNICAS USADAS PARA EL ESTUDIO DEL ESTADO DE LOS RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS

Las técnicas usadas para estudiar el estado de los receptores se pueden clasificar en dos grupos:

- Técnicas que evalúan la densidad (B_{max}) y la afinidad (K_d) de los receptores. Incluyen las técnicas de unión de radioligandos a los receptores serotoninérgicos del tejido cerebral de sujetos *postmortem*, así como a los receptores de la membrana plaquetaria.
- Técnicas que evalúan la funcionalidad o la sensibilidad de los receptores. Incluyen las pruebas neuroendócrinas y diversos estudios funcionales en las plaquetas, como las técnicas de agregación, de cambio de forma, de cuantificación del calcio intraplaquetario y de cuantificación de segundos mensajeros. Todas estas técnicas evalúan la respuesta a la estimulación con serotonina.

Las pruebas neuroendócrinas consisten en la medición del incremento de las hormonas hipofisarias en la sangre como respuesta a la administración de un fármaco, como las azapironas (agonistas 5-HT_{1A}) o la fenfluramina, que libera 5-HT al espacio sináptico e inhibe su recaptación. Dado que el sistema serotoninérgico ejerce una influencia en la regulación de estas hormonas por las proyecciones que envía al hipotálamo, se infiere que la intensidad de esta respuesta hormonal proporciona un índice indirecto de la función serotoninérgica central (Gómez y cols., 1996; Yatham y Steiner, 1993). La lógica de estos estudios considera que si los fármacos administrados para estimular la respuesta hormonal actúan sobre receptores específicos, éstos pueden reflejar la funcionalidad del sistema serotoninérgico, la cual se puede evaluar mediante los cambios que produzca en las concentraciones hormonales.

INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA

La principal enzima para la inactivación de la serotonina es la monoamino oxidasa (MAO), que cataliza la formación del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) por un proceso en dos etapas. El aldehído formado por la acción de la MAO se convierte en ácido 5-hidroxiindolacético por la acción de la aldehído deshidrogenasa y en mucho menor cantidad por una vía alternativa que forma 5-hidroxitriptofol (5-hidroxiindol-3-etanol) por la acción de la aldehído reductasa. El 5-HIAA constituye el principal metabolito de la serotonina cerebral. Se sabe de la existencia de dos isoformas de la MAO: MAO A y B. La MAO A metaboliza preferentemente a la 5-HT y a la noradrenalina,

y la MAO B a la 2-feniletilamina y la benzilamina. Las neuronas contienen ambas isoformas de la MAO localizadas en la membrana mitocondrial, mientras que la MAO B es la isoforma principal en las plaquetas.

Se han sugerido otras vías menores del metabolismo de la 5-HT, como la sulfatación y la O-N-metilación (Sanders-Bush y Mayer, 1996). Además, hay evidencia de la existencia de otras enzimas involucradas en el metabolismo de la 5-HT, como la n-acetiltransferasa y la hidroxil-indol-o-metiltransferasa en plaquetas de conejo (Launay, 1982).

Bianchi y cols. (2002) proponen que los niveles periféricos de 5-HT, particularmente los medidos en plaquetas aisladas, pueden ser usados como marcadores útiles y rápidos para el diagnóstico de la depresión, así como para estudiar la eficacia del tratamiento antidepressivo en el hombre.

Todas estas evidencias nos llevan a la conclusión de que las plaquetas pueden servir como modelos parciales de los mecanismos neuronales serotoninérgicos. La revisión de estos mecanismos en las plaquetas podría ser de utilidad en el estudio de los agentes fisiopatológicos de los pacientes con depresión, debido a su facilidad para ser estudiados, y por ser un reflejo de los mecanismos serotoninérgicos neuronales en al menos varias de sus características.

Tal como comentara Alfred Pletscher, investigador pionero en este campo: «Si bien lo incompleto del modelo exige cuidado en su aplicación, podría tener la ventaja de la simplicidad relativa».

Agradecimiento

Agradecemos la colaboración de Coral Beedham y la doctora Luz Torner en el resumen en inglés de este artículo. Este trabajo forma parte del proyecto de Julia Moreno para obtener el Doctorado en Ciencias Biológicas en la Universidad Autónoma Metropolitana.

REFERENCIAS

1. ALBERT PR, ZHOU QY, VAN TOL HH, BUNZOW JR, CIVELLI O: Cloning functional expression, and mRNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor gene. *J Biol Chem*, 265:5825-5832, 1990.
2. BACKSTROM I, BERGSTROM M, MARCUSON J: High affinity [³H]-paroxetine binding to serotonin uptake sites in human brain tissue. *Brain Res*, 486:261-8, 1989.
3. BALDWIN D, RUDGE S: The role of serotonin in depression and anxiety. *Intern Clin Psychopharmacology*, 9:41-45, 1995.
4. BIANCHI M, MOSER C, LAZZARINI C, VECCHIATO E: Forced swimming test and fluoxetine treatment: in vivo evidence that peripheral 5-HT in rat platelet-rich plasma mirrors cerebral extracellular 5-HT levels, whilst 5-HT in isolated platelets mirrors neuronal 5-HT changes. *Exp Brain Res*, 9:191-197, 2002.
5. BLAKELY RD, BERSON HE, FEMEAU JR RT, CARON MG y cols.: Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain. *Nature*, 354:66-70, 1991.

6. BLAKELY RD, BERSON HE: Molecular biology of serotonin receptors and transporters (abstract). *Clin Neuropharmacol*, 15(supl 1):351A, 1992.
7. BOADLE-BIBER MC: Regulation of serotonin synthesis. *Prog Biophys Molec Biol*, 60:1-15, 1993.
8. DA PRADA M, CESURA AM, LAUNAY JM, RICHARDS JG: Platelets as a model for neurones? *Experientia*, 44:115-130, 1988.
9. DA PRADA M, TRAZER JP, PLETSCHER A: Storage of 5-hydroxytryptamine in human blood platelets. *Experientia*, 28:1328, 1972.
10. FARGIN A, RAYMOND JR, LOHSE MJ, KOBILKA BK y cols.: The genomic clone G-21 which resembles a beta-adrenergic receptor sequence encodes the 5-HT_{1A} receptor. *Nature*, 335:358-360, 1988.
11. GOMEZ E, CATALAN R, NAVINES R, GASTO C: Alteraciones de los receptores serotoninérgicos en la depresión: evidencias y limitaciones. *Actas Esp Psiquiatr*, 29(3):186-194, 2001.
12. GOMEZ GIL E, MARTINEZ DE OSABA MJ, GASTO C: Pruebas neuroendocrinas de función serotoninérgica y estudios en depresión. *Psiquiat Biol (Barcelona)*, 3:142-51, 1996.
13. GRAHAM D, ESNAUD H, HABERT E, LANGER SZ: A common binding site for tricyclic and nontricyclic 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors at the substrate recognition site of the neuronal sodium-dependent 5-hydroxytryptamine transporter. *Biochem Pharmacol*, 38:3819-26, 1989.
14. GRAHAM D, LANGER SZ: Advances in sodium-ion coupled biogenic amine transporters: *Life Sci*, 51:631-645, 1992.
15. HARRINGTON MA, ZHONG P, GARLOW SJ, CIARANELLO RD: Molecular biology of serotonin receptors. *J Clin Psychiatry*, 53(10,supl):8-27, 1992.
16. HEURING RE, PEROUTKA SJ: Characterization of novel [³H]-5-hydroxytryptamine binding site subtype in bovine brain membranes. *J Neurosci*, 7:894-903, 1987.
17. HOFMAN BJ, MEZEY E, BROWNSTEIN MJ: Cloning of a serotonin transporter affected by antidepressants. *Science*, 254:579-581, 1991.
18. JOHNSON JR RG: Accumulation of biological amines into chromaffin granules: a model of hormone and neurotransmitter transport. *Physiol Rev*, 68:232-307, 1988.
19. JÖRGENSEN H, KNIGGE U, WARBERG J: Involvement of 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ receptors in the mediation of the prolactin response to serotonin and 5-hydroxytryptophan. *Neuroendocrinology*, 55:336-343, 1992.
20. KENNETT GA: Serotonin receptors and their function. *Neuropharmacol*, 36:1-12, 1997.
21. LAUNAY JM, LEMAITRE BJ, HUSSON HP, DREUX C, HARTMANN L, DA PRADA M: Melatonin synthesis by rabbit platelets. *Life Sci*, 31:1487-1494, 1982.
22. LEMBO PM, ALBERT PR: Multiple phosphorylation sites are required for pathway-selective uncoupling of the 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor by protein kinase C. *Mol Pharmacol*, 48:1024-1029, 1995.
23. LESCH KP, WOLOZIN BL, ESTLER HC, MURPHY DL, RIEDERER P: Isolation of a cDNA encoding the human brain serotonin transporter. *J Neural Transm*, 91:67-73, 1993(a).
24. LESCH KP, WOLOZIN BL, ESTLER HC, MURPHY DL y cols.: Primary structure of the human platelet serotonin (5-HT) uptake site: Identity with the brain serotonin transporter. *J Neurochem*, 60:2319-2322, 1993(b).
25. LINJAERDE O, KILDEMO O: Dopamine uptake in platelets: Two different low-affinity, saturable mechanisms. *Agents Actions*, 11:410-416, 1981.
26. MALMGREN R: Platelets and biogenic amines. 2. Indications for a discrete low affinity uptake mechanism shared by norepinephrine and 5-hydroxytryptamine in human platelets. *Psychopharmacology*, 90:384-389, 1986.
27. MALMGREN R: Platelets and biogenic amines. Platelets are poor investigative models for dopamine re-uptake. *Psychopharmacology*, 84:480-485, 1984.
28. MANN CD, HRDINA PD: Sodium dependence of [³H]-paroxetine binding and [³H]-5-hydroxytryptamine uptake in rat diencephalon. *J Neurochem*, 59:1856-61, 1992.
29. MARSDEN CA, CONTI J, STROPE E, CURZONG, ADAMS RN: Monitoring 5-hydroxytryptamine release in the brain of the freely moving unanesthetized rat using in vivo voltammetry. *Brain Res*, 171:85-99, 1979.
30. MARSHALL IG, PARSONS SM: The vesicular acetylcholine transport system. *Trends Neurosci*, 10:174-177, 1987.
31. MARTIN GR, HUMPHREY PPA: Classification review. Receptors for 5-hydroxytryptamine: current perspectives on classification and nomenclature. *Neuropharmacol*, 33:261-273, 1994.
32. MELLERUP E, LANGER SZ: Validity of imipramine platelet binding sites as a biological marker of endogenous depression. A world health organization collaborative study. *Pharmacopsych*, 23:113-117, 1990.
33. MONFERINNI E, GAETANI P, RODRIGUEZ-Y-BAENA R, GIRALDO E y cols: Pharmacological characterization of the 5-hydroxytryptamine receptor coupled to adenylyl cyclase stimulation in human brain. *Life Sci*, 52:PL61-65, 1993.
34. OWENS MJ, NEMEROFF CB: Role of serotonin in the pathophysiology of depression: Focus on the serotonin transporter. *Clin Chem*, 40:288-295, 1994.
35. PAASONEN MK AND PLESCHER A: Increase of free 5-hydroxytryptamine in blood plasma by reserpine and a benzoquinolizine derivative. *Experientia*, 15:477-479, 1959.
36. PAASONEN MK: Release of 5-hydroxytryptamine from blood platelet. *J Pharm Pharmacol*, 17:681-697, 1965.
37. PAGE IH: The discovery of serotonin. *Perspect Biol Med*, 20:1-8, 1976.
38. PLESCHER, A, SHORE PA, y BRODIE BB: Serotonin as a mediator of reserpine action in brain. *J Pharmacol Exp Ther*, 116:84-89, 1956.
39. PLESCHER, A: Metabolism transfer and storage of 5-hydroxytryptamine in blood platelets. *Br J Pharmacol*, 32:1-16, 1968.
40. PLETSCHER A: The 5-hydroxytryptamine system of blood platelets: physiology and pathophysiology. *Int J Cardiol*, 14:177-188, 1987.
41. PLETSCHER A: Platelets as models: use and limitations. *Experientia*, 44:152-155, 1988.
42. RAMAMOORTHY S, BAUMAN AL, MOORE KR, HAN H y cols.: Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90:2542-6, 1993.
43. RUDNICK G, CLARK H: From synapse to vesicle: the reuptake and storage of biogenic amine neurotransmitters. *Biochim Biophys Acta*, 1144:249-263, 1993.
44. SANDERS-BUSH E, MAYER SE: Agonistas y antagonistas de los receptores de 5-hidroxitriptamina. En: Goodman Gilman (ed). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. McGraw-Hill Interamericana, pp: 265-280, México, 1996.
45. STRÜDER HK, WEICKER H: Physiology and Pathophysiology of the Serotonergic System and its implications on mental and physical performance. Part 1. *Int J Sports Med*, 22:476-481, 2001.
46. WEST ED, DALLY PJ: Effect of iproniazid in depressive syndromes. *Br Med J*, 1:1491, 1959.
47. YATHAM LM, STEINER M: Neuroendocrine probes of serotoninergic function: A critical review. *Life Sci*, 53:447-63, 1993.



Calz. México-Xochimilco 101,
Col. San Lorenzo Hulpulco,
Del. Tlalpan, C.P. 14370, México D.F.

**INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRIA
RAMON DE LA FUENTE**

Tel. 56 56 28 11, Fax 56 56 04 11,
<http://www.impcdsm.edu.mx>

MEMORANDUM

Ref.: DAM-506-2003

Agosto 27 , 2003

PARA: ING. JOSE CORTÉS SOTRES
Subdirector de Información y
Desarrollo Organizacional

DE: LIC. ANA DE LA PARRA CORIA
Directora de Administración

Por este medio me permito informar a usted que en la sesión 505ª celebrada el 26 de agosto de 2003, fueron aprobados por el Comité de la Investigación Científica los siguientes proyectos, presentados por la Dirección de Servicios Clínicos.

“Bases neuroanatómicas del procesamiento de las representaciones abstractas en la memoria semántica. Investigación mediante spect y estimulación magnética transcranéal” que presentan la Maestra Gabriela Galindo y el Maestro Víctor Manuel Patiño Torrealva de la Universidad de Morelos

“Comportamiento del Sistema Serotoninérgico periférico en la depresión unipolar” a cargo de la Q.F.B. Julia Moreno Aguilar

Atentamente,

INSTITUTO NACIONAL
DE PSIQUIATRIA
RAMON DE LA FUENTE MUÑIZ

27 AGO 2003

DIRECCIÓN DE SERVICIOS CLÍNICOS
12/3/03

c.c. Dr. José Antonio García Marín, Director de Servicios Clínicos.-
Presente.

c.c. Lic. María Yolanda de la Parra, Jefe del Departamento de Evaluación y Estadística.- (CON ANEXOS) Presente.

AP/les.

Ref: DPC-10A6.2-06

Mayo 23, 2006

Quim. Julia Moreno y colaboradores
Presentes

Distinguidos autores:

Por medio de la presente les comunico que su artículo: "TRYPTOPHAN AND SEROTONINE IN BLOOD AND PLATELETS OF DEPRESSED PATIENTS. ANTIDEPRESSIVE TREATMENT EFFECTS", ha sido aceptado por el Comité Editorial y aparecerá publicado en el vol. 29, no. 4, julio-agosto de 2006.

Atentamente



Dr. Héctor Pérez-Rincón
Editor

"2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas, Don Benito Juárez García"

TRYPTOPHAN AND SEROTONIN IN BLOOD AND PLATELETS OF DEPRESSED PATIENTS: EFFECT OF THE ANTIDEPRESSANT TREATMENT.

TRIPTOFANO Y SEROTONINA EN SANGRE Y PLAQUETAS DE PACIENTES DEPRIMIDOS. EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIDEPRESIVO.

¹Julia Moreno, ²María G. Campos, ³Carmen Lara ⁴Guadalupe López, ⁵Lenin Pavón, ⁵Ma Eugenia Hernández, ⁴Hector Senties, ⁴Jorge González-Olvera, ⁴Mario Torruco, ⁴Ivan Arango ⁴Gerardo Heinze y ⁶Carlos Torner.

1. División de Servicios Clínicos, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente; y Hospital General, Centro Médico La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social, México D.F.

2. Unidad de Investigación Médica en Farmacología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

3. Servicios Clínicos, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente; y Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

4. Servicios Clínicos, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, México, D.F.

5. Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, México, D.F.

6. Departamento de Atención a la Salud, C.B.S. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México D.F.

Correspondence author: Q.F.B. Julia Moreno, Laboratorio Clínico, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Calzada México Xochimilco No. 101, Col. San Lorenzo Huipulco, C.P. 14370, México, D.F. Teléfono: 56552811 ext. 311. E-mail:moreno@imp.edu.mx



Summary

Platelets have 5-HT (5-HT) uptake and storage mechanisms similar to those in neurons. In addition, they represent nearly 99% of blood 5-HT concentration. Such characteristics make platelets to be considered useful biomarkers of the serotonergic synaptic neurotransmission, particularly in psychiatric disturbances such as depression. However, most studies that have evaluated platelet 5-HT concentrations in depression have not shown similar findings.

It has been suggested that changes in plasma tryptophan (TRP) concentrations might modify 5-HT concentration in the brain, as well as in platelets. Likewise, decreased plasma concentrations of TRP have been found in depressed patients, and the selective 5-HT reuptake inhibitors (SSRIs) induce changes in platelet 5-HT concentration.

Considering the controversy on platelet 5-HT concentrations in depressed patients, and the fact that blood 5-HT and TRP have not been studied in Mexican population, we decided to study 5-HT and tryptophan concentrations in blood and platelets from Mexican depressed and control subjects to evaluate a possible correlation with the severity of depression. Furthermore, the effect of fluoxetine and citalopram treatment on blood and platelet 5-HT and TRP concentrations in depressed patients was studied.

2. Material and Methods

Depressed patients

The patients of this study were carefully selected and evaluated. Scales based on semi-structured interviews were applied (MINI and SCID II) by clinical investigators, to reduce possible bias in the patient selection. The influence of the seasonal variability on the 5-HT or TRP blood concentrations was control by pairing depressed patients and healthy subjects according to age, gender, in the case of women, menstrual cycle phase. Patients with a complete remission of depression symptoms (defined as a score not larger than 5 points in the Hamilton's scale, and minor than 7 points in the Beck's scale) were asked for a blood sample to measure platelet and blood concentrations of 5-HT and TRP. The patients were weighted before the treatment and after their improvement.

Control subjects

The control group was integrated by thirty healthy subjects, 24 women and 6 men, with an average age of 32.3 ± 10.8 years. Participants were recruited from the population, interviewed by a psychiatrist, and evaluated with the structured interview MINI and the SCID-II, to discard any psychiatric diagnose. None of them had received any pharmacological treatment during three weeks previous to the study. Control and depressed women were paired accordingly to the menstrual cycle phase.

All the participating candidates received a detailed explanation of the study, and those who voluntarily accepted the stipulations signed an informed consent document. Control and patient subjects were clinically examined and studied with laboratory routine tests (blood count, blood chemistry, urinalysis, and thyroid function test).

Blood sample procedures

5-HT and TRP measurements in total blood preparation were carried out accordingly to the method described by Anderson (1987), and were quantified by high performance liquid chromatography (HPLC).

Statistical analysis

The differences were statistically determined with analysis of variance (ANOVA), with assistance of SPSS 12.00 (Statistical Software by SPSS Inc.).

Results

The results of laboratory tests such as blood count, blood chemistry, thyroid function (T3, T4 and TSH) and urinalysis were normal in depressed subjects as well as in healthy volunteers.

Platelet number, blood 5-HT concentration, platelet content of 5-HT, and blood tryptophan concentration in depressed patients showed no significant differences in comparison to control subjects. 5-HT values in blood and platelet were significantly lower than the initial concentrations in patients after antidepressant treatment.

Discussion and conclusions.

The discrepancies between our study and those found in the literature can be explained from three different approaches: ethnical, physiological, and methodological as further discussed.

The significant decrease produced by the antidepressant treatment in blood and platelet serotonin concentration may be a consequence of the action of SSRIs, due to 5-HT diminished uptake by the platelet.

Considering our results, we conclude that:

1. Blood and platelet 5-HT concentrations were not different between depressed patients and healthy volunteers.
2. Blood TRP concentrations were not different between depressed patients and healthy volunteers.
3. SSRIs (fluoxetine or citalopram) used in the treatment of depressed patients induced a significant decrease in blood and platelet content of 5-HT, and had no effect in TRP concentrations.
4. Based on these results, neither blood/platelet 5-HT nor blood tryptophan concentrations seem to be good biological markers of the depressive patient status. However, 5-HT, but not tryptophan, might be a reference point for pharmacological treatment effect.

Key words: Depression; 5-Hydroxytryptamine; Platelet; tryptophan; Antidepressants.

Resumen:

Debido a que las plaquetas tienen un mecanismo de recaptura y almacenamiento de serotonina y acumulan alrededor del 99% del total de la serotonina en sangre, la serotonina plaquetaria ha sido empleada como un indicador de la función serotoninérgica sináptica en trastornos psiquiátricos como la depresión. Sin embargo, los estudios que han evaluado la correlación entre la depresión y los cambios en los niveles de serotonina plaquetaria han dado resultados contradictorios

Por lo que respecta al precursor de la 5-HT, el triptófano (TRP), se ha sugerido que el cambio en los niveles de triptófano plasmático podría ser la causa de las alteraciones en los niveles de 5-HT tanto en las plaquetas como en el cerebro, y se ha reportado la disminución de los niveles plasmáticos de TRP en pacientes con depresión.

Respecto al efecto que han tenido los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina sobre la serotonina plaquetaria, se ha documentado que los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina inducen cambios en los niveles plaquetarios de esta amina. Tomando en cuenta la controversia respecto a los niveles plaquetarios de 5-HT en los pacientes deprimidos, y además porque a la fecha no se ha caracterizado el efecto de la depresión sobre los niveles de 5-HT y TRP en sangre en sujetos mexicanos, se decidió estudiar los niveles sanguíneos y plaquetarios de serotonina (5-HT) y triptófano (TRP) en pacientes deprimidos, y compararlos con los niveles de estas sustancias en sujetos sanos. Adicionalmente, se estudió el efecto

del tratamiento antidepressivo con inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (fluoxetina ó escitalopram), sobre los niveles de 5-HT y TRP sanguíneos en pacientes deprimidos.

2. Material y métodos

Pacientes deprimidos:

Los treinta pacientes incluidos en este estudio (24 mujeres y 6 hombres) fueron cuidadosamente seleccionados y evaluados. Se consideró la influencia de la estacionalidad, por lo que al ingreso de un paciente al estudio se le buscaba su control pareándolo por edad y sexo, y en el caso de las mujeres, la sujeto control seleccionada fue estudiada ajustando su fase del ciclo menstrual con el de la paciente en estudio.

Grupo control.

El grupo control lo conformaron treinta sujetos sanos con una meda de edad de 32.3 ± 10.8 años, (24 mujeres y 6 hombres). Se confirmó que no sufrieron ningún trastorno psiquiátrico y el SCID-II para descartar alguna alteración en eje II. Todos ellos estuvieron libres de cualquier medicación por lo menos 3 semanas previas al estudio. Los controles mujeres se parearon de acuerdo a la fase del ciclo menstrual de las pacientes.

Todos los sujetos participantes después de recibir una minuciosa explicación, firmaron la carta de consentimiento informado para participar en este estudio. Tanto pacientes como controles fueron físicamente examinados con datos clínicos y de laboratorio

(citometría hemática completa, pruebas bioquímicas, examen general de orina y pruebas de función tiroidea).

Los pacientes deprimidos recibieron de forma abierta, tratamiento farmacológico a base de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (fluoxetina o escitalopram) buscando la remisión total de la sintomatología depresiva.

Cuando los pacientes presentaron remisión de los síntomas depresivos se les tomo nuevamente una muestra de sangre para cuantificar los niveles sanguíneos y plaquetarios de 5-HT y TRP.

Análisis de 5-HT y TRP

El análisis de 5-HT y TRP en sangre total, se realizó de acuerdo al método descrito por Anderson (1987) y se cuantificaron por cromatografía de alta eficiencia (HPLC).

Análisis Estadístico:

Se determinó la existencia de diferencias estadísticamente significativas por medio del análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y se utilizó la prueba de Tuckey HSD como prueba post hoc. En todos los casos se graficó la media \pm el error estándar.

Resultados.

Los resultados de laboratorio y gabinete (BHC, química sanguínea, función tiroidea (T3, T4 y TSH), examen general de orina y electroencefalograma fueron normales tanto en pacientes deprimidos así como en los sujetos control.

El número de plaquetas, la serotonina sanguínea, el contenido de serotonina plaquetario y la concentración de triptófano no mostraron

diferencias en comparación con los sujetos control. Sin embargo las concentraciones de la serotonina sanguínea y plaquetaria fueron significativamente mas bajas en los pacientes deprimidos después del tratamiento antidepresivo.

Discusión y conclusiones.

Las discrepancias entre este estudio y otros reportados en la literatura se explican en función de tres aspectos que son: los éticos, fisiológicos y metodológicos los cuales son discutidos.

El significativo decremento de las concentraciones de serotonina sanguínea y plaquetaria, producido por el tratamiento antidepresivo (fluoxetina o escitalopram) puede ser consecuencia de la disminución de la recaptura de 5-HT por las plaquetas.

Considerando los resultados encontrados, podemos concluir que:

1. Los pacientes mexicanos no mostraron cambios en las concentraciones de serotonina en sangre ni en las plaquetas, asociada con la depresión.
2. igualmente, tampoco se encontraron cambios en las concentraciones de TRP en sangre asociada con la depresión.
3. El tratamiento con medicamentos antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (fluoxetina ó escitalopram) se asocian con una disminución de la concentración de serotonina tanto en sangre como en plaquetas, sin cambio en las concentraciones de triptófano en sangre.

Palabras Clave: depresión; 5-hidroxitriptamina; plaquetas; triptófano; antidepresivos.

1. INTRODUCTION

Since the mechanisms for a high affinity serotonin uptake and storage (5-HT) in platelets are similar to those found in neurons (Stahl, 1977; Da Prada et al., 1988; Pletscher, 1987), platelets have been considered markers of the synaptic serotonergic function in psychiatric dysfunctions, such as depression (Stahl 1977, Stahl et al., 1982, Quintana, 1992). However, most studies that have evaluated the correlation between depression and changes in platelet serotonin concentrations have shown controversial results. For instance, Wirz-Justice and Puhlinger (1978) found an increase in platelet serotonin concentration in patients suffering bipolar depression compared to that measured in control subjects; no differences in patients with unipolar depression were found. Sarrias et al., (1987) found a decrease in platelet serotonin in depressed subjects compared to control subjects. They proposed that neuronal serotonergic dysfunction is reflected in platelets. Quintana (1992) reported that platelet serotonin concentrations are diminished in patients with unipolar depression, whereas Mucck-Seler et al. (1991) reported greater platelet serotonin concentrations in depressed patients compared to controls. Karege et al. (1994) did not find differences between depressed and control subjects.

On the other hand, the results of the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) have been focused on the dysfunction of the cerebral serotonergic system involved in depression. They have documented the changes in the platelet serotonin concentrations using SSRIs (Menis et al., 1996, Blardi et al., 2002).

Plasmatic concentrations of tryptophan (TRP), which is the serotonin precursor, may be present in serotonin blood dysfunctions, as well as in the brain of depressed subjects. Decreased plasmatic concentrations of TRP have also been found in depressed patients in comparison to healthy subjects (Bovier et al., 1988, Karege et al., 1994).

Considering the literature controversy on platelet serotonin concentrations in depressed patients, we studied serotonin and tryptophan concentrations in blood and platelets from depressed and control subjects to evaluate both a possible correlation with the severity of depression and SSRIs treatment (fluoxetine or citalopram).

2. METHODS

Depressed subjects

Thirty subjects, 24 women and 6 men in the range of 18 to 45 years (34 ± 11 years) were studied. These patients fulfilled the criteria for Major Depressive Episode of the Diagnosis and Statistics Manual of the American Psychiatric Association Manual, (DSM-IV American Psychiatric Association, 1994). The symptoms severity was evaluated with the Hamilton Scale for Depression (HSD) (Hamilton, 1960), as

well as with the Beck's Inventory for Depression, (IBD, Beck, 1961). All the selected patients scored greater to 22 points in HSD. Depressive patients had no pharmacological treatment during 30 days prior to the study, and took the Structured Interview for Personality Dysfunctions SCID-II to discard any personality disorder associated to depression. To avoid seasonal variations, patients were paired with their controls by age and sex. The women were also paired according to their menstrual cycle phase. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI) in the validated Spanish version (Heinze et al., 2000) was applied to the subjects by a psychiatrist to corroborate the diagnosis. Subjects with any neurological or psychiatric dysfunction were excluded, including alcohol and psychoactive substance dependence, as well as pregnancy. Patients suffering from depression received pharmacological treatment under clinical staff supervision using selective serotonin reuptake inhibitors (either fluoxetine or citalopram in a dose of 20 or 10 mg/day respectively). Patients with a complete remission of depression symptoms (defined as a score not larger than 5 points in the Hamilton's scale, and minor than 7 points in the Beck's scale) were asked for a blood sample to measure platelet and blood concentrations of 5-HT and TRP. The patients were weighted before the treatment and after their improvement.

Control subjects

The control group was integrated by thirty healthy subjects, 24 women and 6 men, with an average age of 32.3 ± 10.8 years. Participants were recruited from the population, interviewed by a psychiatrist, and evaluated with the structured interview MINI and the SCID-II, to discard any psychiatric diagnose. None of them had received any pharmacological treatment during three weeks previous to the study. Control and depressed women were paired accordingly to the menstrual cycle phase.

All the participating candidates received a detailed explanation of the study, and those who voluntarily accepted the stipulations signed an informed consent document. Control and patient subjects were clinically examined and studied with laboratory routine tests (blood count, blood chemistry, urinalysis, and thyroid function test).

Blood sample procedures

Blood samples were collected during the morning, between 7:30 and 9:00, in Vacutainer tubes (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) containing 250 μ l 10% EDTA (K_3) solution as anticoagulant. An aliquot of 250 μ l was placed in 1.5 ml plastic microtubes for 5-HT and TRP analysis in whole blood. Sample preparation was performed in agreement with Anderson (1987). Briefly, 250 μ l of blood and 50 μ l of ascorbic acid were mixed during 10 seconds with 50 μ l of a solution of 3.4 M $HClO_4$. The mixture is allowed to rest during 10 min at $0-4^\circ$

C, and centrifuged for 5 min at 7,500 x g. The supernatant is filtered through a 0.45 μm filter and 50 μl of the deproteinized sample was injected in the chromatograph.

Chromatographic system.

Serotonin and tryptophan were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), using a Novapak column. The mobile phase consisted of buffer/acetonitrile (95:5 v/v), the buffer constitution was: 12.6 mM citric acid; 11.60 mM $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 2,54 mM sodium octylsulphonate, 1.11 mM EDTA disodic salt, and 3.32 mM of dibutyl amine phosphate). The pH was adjusted at 3.17 with NaOH (2N) after the addition of the acetonitrile. The mobile phase was pumped in isocratic flow at 1.0 ml/min.

HPLC equipment consisted of a Waters pump 510 (Milford, MA, U.S.A), a Waters 710B WISP autosampler, a Waters packed with I insert Nova-pak C18 guard column, and a Nova-pak C18 (3.9 x 150mm) column. A Waters 470 fluorescence detector was used, with an excitement wave longitude of 278 nm, and an emission of 335nm. The eluent filtered through a filter of 0.22 μm . A program of gain of 0-6 min was used with a gain X 1, and another of 6-13 min with a gain X 100. The time of retention was of 5 minutes for the TRP, and of 7.84 minutes for 5-HT. The intra-assay variation coefficient was 1.77% for TRP (n = 20, 8.55 $\mu\text{g/ml}$) and 5.30% for 5-HT (n = 20, 40.65 ng/ml). The inter-assay variation coefficient was 3.08% for TRP (n = 5, 8.98 $\mu\text{g/ml}$), and 5.24% for 5-HT (n = 4, 43.75 ng/ml).

Statistical analysis

The differences were statistically determined with analysis of variance (ANOVA), with assistance of SPSS 12.00 (Statistical Software by SPSS Inc.).

3. RESULTS

The results of laboratory tests such as blood count, blood chemistry, thyroid function (T3, T4 and TSH) and urinalysis were normal in depressed subjects as well as in healthy volunteers. There were not any significant differences between the values of these groups (data not shown).

At the beginning of the study, the patients showed greater average rates of depressive symptoms (HAMD 25.21 ± 0.62 ; BDI 25.6 ± 1.74), compared to control subjects (HAMD 1.25 ± 0.35 ; BDI 3.3 ± 0.78) (figures 1 and 2).

The pharmacological treatment with fluoxetine or escitalopram induced symptom remission according to Hamilton (HAMD 3.3 ± 1.25) and Beck (BDI 4.23 ± 1.07) scales, scored at the end of the study. The antidepressant treatment did not produce significant changes in the patient weight (figure 3).

Blood platelets

Although the platelet number was slightly lower in depressed patients in comparison with control subjects, the difference was not

significant ($F_{2,74} = 3.64$; $P = 0.061$). On the other hand, the antidepressant treatment did not produced significant changes in the number of platelets in patients ($F_{2,74} = 2.522$; $P = 0.087$) (figure 4).

5-HT concentration in blood

The average of blood serotonin concentration in depressed patients was slightly greater compared with controls (figure 5), although the difference was not significant ($F_{2,74} = 0.581$; $P = 0.449$). At the end of the antidepressant treatment the serotonin concentrations were significantly lower ($F_{2,74} = 11.281$; $P < 0.000$) than the initial concentrations in patients.

Platelet content of 5-HT

Similarly to blood serotonin, the platelet content of serotonin did not showed significant differences ($F_{2,74} = 2.529$; $P = 0.117$) between depressed patients and control subjects (figure 6). However, at the end of the antidepressant treatment the platelet serotonin concentrations were significantly lower ($F_{2,74} = 13.564$; $P < 0.000$) compared to the initial concentrations of depressed and control subjects.

Blood tryptophan concentration

The blood tryptophan concentrations (figure 7) did not showed differences between depressed patients and control subjects ($F_{2,73} = 0.213$; $P = 0.646$). However, contrarily to the serotonin

concentrations the blood TRP concentration did not change by the antidepressant treatment ($F_{2,73} = 0.104$; $P = 0.901$).

4. DISCUSSION

In this study, the 5-HT and TRP concentrations were measured in the blood as well as in platelet preparations, to evaluate the possible differences between depressed patients and healthy volunteers. As far as we know, this is the first study to evaluate these aspects in Mexican subjects as well as the effect of antidepressant treatment on 5-HT and TRP concentrations.

The depressed patients showed significantly greater depressive symptom scores than control subjects, when evaluated with the Hamilton's scale (figure 1) and the Beck's scale (figure 2). The antidepressant treatment elicited a significant reduction in the symptoms severity, without affecting the patient's weight (figure 3). Regarding this, it has been documented that the weight increment is more often related to paroxetine than to fluoxetine (Calil, 2001). We believe that this may be the reason for no significant weight changes in patients. Platelet number by blood milliliter was similar between patients and controls, and antidepressant treatment did not produce any change in the number of platelets in the depressed patient group. The serotonin concentration in depressed patients was similar to that one in control subjects; this means that both groups did not present changes in the serotonin concentration, in the platelets, or in the blood.

Our results differ from some previous studies like those from Sarrias et al., (1987), Quintana, (1992), or Cleare (1997), who reported smaller platelet 5-HT concentrations in depressed patients when compared to controls. However, our results coincide with the reports of Mann et al., (1992), Karege et al., (1994), Mück-Seler et al., (1991), (1996) and Hughes et al., (1996), who did not find differences between depressed patients and controls.

The discrepancies between our study and those found in the literature can be explained from three different approaches. The first one involves ethnic factors that have been considered in the studies by Cuccaro et al., (1993); Cook et al., (1995), and Hughes et al., (1996). In particular, Hughes et al., (1996) compared children and adolescents with mood disturbances with their respective controls, finding that the Afro-American patients had higher 5-HT blood concentrations than the Caucasian ones. However, they did not find differences between patients with mood disturbances and their controls in the Afro-American ethnic group, while the Caucasian patients showed differences in blood serotonin concentrations, related to depression. These authors have proposed that race is a critical variable that should be controlled in biological markers studies. The present study is the first of its class carried out in Mexico; therefore, further investigations concerning racial aspects in Mexican population are needed.

The second factor is physiological. In this regard, Karege et al. (1994) mention that several factors can be involved in the

control of 5-HT storage by platelets, such as serotonin synthesis, uptake, release, and metabolism mechanisms. Any alteration in these processes could adversely affect serotonin platelet content.

The third aspect is methodological. Cleare (1997) studied 17 depressed patients, 4 patients with suicide attempt history included, that can influence his results. Mann (1992) have previously published that the depressed patients with suicidal attempt had lower 5-HT blood and platelet concentrations than non-suicidal depressed patients. In this regard, the patients of our study were carefully selected and evaluated with clinimetric instruments (MINI and SCID II) by two physicians, to exclude the bias of personality dysfunctions, suicidal attempts, or any other psychiatric disorders.

Regarding tryptophan concentrations, we did not find differences in blood from control subjects or depressed patients, not even when these patients were given antidepressant treatment (figure 7).

Blood tryptophan concentration is known as an indicator of tryptophan converted to serotonin in the central nervous system; this biological marker could be used as a reference of the CNS serotonergic activity (Aymard et al., 1993). However, our results did not support this assumption. Likewise, other authors have not found differences between TRP concentration of depressed patients and control subjects (Russ et al., 1990; Karege et al., 1994; Aymard et al., 1993).

On the other hand, the selective inhibitors of serotonin reuptake have showed their antidepressant effects. In this study,

blood and platelet 5-HT concentrations were found to diminish after fluoxetine or escitalopram treatment. This finding agrees with the results from Kremer et al., (1990), Celada et al., (1992), Karege et al., (1994), Blardi et al., (2002), and Castrogiovan (2003), who reported a decrease of the serotonin concentrations in blood and in platelet, induced by the antidepressant treatment.

Calil (2003) mentioned that the hypothetical mechanisms for the remission of depressive symptoms using SSRIs included the increment in the synapse of the serotonergic signal as a consequence of the inhibition of the uptake system, and at the same time the reduction of the availability of serotonin in the synapses, as a consequence of the pharmacologically diminished serotonin uptake. Other mechanisms may be the SSRIs secondary effects in other neurotransmitter systems such as noradrenergic, dopaminergic, cholinergic, and GABAergic, which are associated with several clinical symptoms, as well as with differences in patient's biological and cognitive sensitivity.

The significant decrease produced by the antidepressant treatment in blood and platelet serotonin concentration may be a consequence of the action of SSRIs, due to 5-HT diminished uptake by the platelet. Menys et al., (1996), Spreux-Varoquaux et al., (1996) & Blardi et al., (2002) have suggested that platelet serotonin measurement may be useful as a possible model to study the clinical response in the depressed patient.

In our study, depressed patients treated with SSRI improved their depressive symptoms, which is common in depressed patients

without any other psychopathology. However, in depressed patients with other psychiatric disturbance, such as personality dysfunction, SSRI antidepressant treatment is not satisfactorily effective (Papakostas et al., 2003).

5. CONCLUSIONS

1. Blood and platelet 5-HT concentrations were not different between depressed patients and healthy volunteers.
2. Blood TRP concentrations were not different between depressed patients and healthy volunteers.
3. SSRIs (fluoxetine or citalopram) used in the treatment of depressed patients induced a significant decrease in blood and platelet content of 5-HT, and had no effect in TRP concentrations.

Acknowledgements:

We are thankful for the work of MRS Coral Beedham, who corrected the English version of the manuscript.

This work is part of the project of JM to obtain the degree of Doctora en Ciencias Biológicas, at the Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

6. REFERENCES

1. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV)*, fourth Edition. Washington, DC, American Psychiatric Association, 1994.
2. ANDERSON GM, FEIBEL FC, AND COHEN DJ. Determination of serotonin in whole blood, platelet-rich plasma, platelet-poor plasma and ultrafiltrate. *Life Sci*; 40:1063-1070, 1987.
3. AYMARD N, HONORE P, AND CARBUCCIA I. Determination of 5-hydroxytryptamine and tryptophan by liquid chromatography in whole blood. Its interest for the exploration of mental disorders. *Prog Neuro-Psychopharmacol & Biol Psychiat*; 18: 77-86, 1994.
4. BECK A.T., WARD C., MENDELSON M.. "Beck Depression Inventory (BDI)". *Arch Gen Psychiatry* 4: 561-571, 1961.
5. BLARDI P, DE LALLA A, LEO A, AUTERI A, IAPICHINO S, DI MURO A, DELL'ERBA A AND CASTROGIOVANNI P. Serotonin and fluoxetine levels in plasma and platelets after fluoxetine treatment in depressive patients. *J Clin Psychopharmacol*; 22(2):131-136, 2002.
6. BOVIER P, WIDMER J, GAILLARD JM, TISSOT R. Evolution of red blood cell membrane transport and plasma level of tyrosine and L-tryptophan in depressed treated patients according to clinical improvement. *Neuropsychobiology*; 19:125-134, 1988.

7. CALIL HM. Fluoxetine: A suitable long term treatment. *J Clin Psychiatry*; Vol. 62, suppl. 22: 24-29. 2001.
8. CASTROGIOVANNI P, BLARDI P, IAPICHINO S , DE LALLA A, DELL'ERBA A, AUTERI A. *Psychopharmacology Bulletin*; 37(2): 102-108, 2003.
9. CELADA P, DOLERA M, ALVAREZ E, AND ARTIGAS F. Effects of acute and chronic treatment with fluvoxamine on extracellular and platelet serotonin in the blood of major depressive patients. Relationship to clinical improvement. *J affect Dissord*; 25: 243-250, 1992.
10. CLEARE A. Reduced whole blood serotonin in major depression. *Depression & Anxiety*; 5:108-111, 1997.
11. COOK EH, STEIN MA, ELLISON T, UNIS AS AND LEVENTHAL, BL. Attention deficit hyperactivity disorder and whole blood serotonin levels: Effects of comorbidity. *Psychiatry Res*; 57:13-20, 1995.
12. CUCCARO ML, WRIGHT, HH, ABRAMSON RK, MARSTELLER FA, AND VALENTINE J. Whole blood serotonin and cognitive functioning in autistic individuals and their first-degree relatives. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*; 5: 94-101, 1993.
13. DA PRADA M, CESURA AM, LAUNAY JM AND RICHARDS JG. Platelets as a model for neurones? *Experientia* 44, 1988 Birkhäuser Verlag, CH-4010 Basel/Switzerland.
14. HAMILTON M. Development of a rating scale for primary depressive illness *Br J Soc Clin Psychol*; 6:278, 1967.

15. HEINZE G., M.I.N.I 5.0.0. *Mini International Neuropsychiatric Interview*, Spanish and Central American versión/ DSM-IV, Sheehan DV and Lecrubier Y, 2000.
16. HUGHES CW, PETTY F, SABRI S AND GERALD L KRAMER. Whole-blood serotonin in children and adolescents with mood and behaviour disorders. *Psychiatry Res*; 65: 79-95, 1996.
17. KAREGE F, WIDMER J, PHILIPPE BOVIER AND GAILLARD JM. Platelet serotonin and plasma tryptophan in depressed patients: Effect of drug treatment and clinical outcome. *Neuropsychopharmacology*; 10(3):207-214, 1994.
18. KREMER H.P.H, GOEKOOP JG, & VAN KEMPEN GV. Clinical use of the determination of serotonin in whole blood. *J Clin Psychopharmacol*; 10: 83-87, 1990.
19. MANN JJ, MCBRIDE PA, ANDERSON GM, AND MIECZKOWKI TA. Platelet and whole blood serotonin content in depressed inpatients: correlations with acute and life-time psychopathology. *Biol Psychiatry*; 32:243-257, 1992.
20. MENYS VC, SMITH CCT, LEWINS P, FARMER RD, NOBLE MI. Platelet 5-hydroxytryptamine is decreased in a preliminary group of depressed patients receiving the 5-hydroxytryptamine re-uptake inhibiting drug fluoxetine. *Clin Sci*; 91(1):87-92, 1996.
21. MUCK-SELER D, JAKOVLJEVIC M, AND DEANOVIC S. Effect of antidepressant treatment on platelet 5-HT content and relation to therapeutic outcome in unipolar depressive patients. *J Affect Disord*; 23: 157-164, 1991.

22. MUCK-SELER D, JAKOVLJEVIC' M AND DEANOVIC'Z. Platelet serotonin in subtypes of schizophrenia and bipolar depression. *Psychiatry Res*; 38, 105-113, 1991
23. MUCK-SELER D, JAKOVLJEVIC' M AND PIVAC N. Platelet 5-HT concentrations and suicidal behaviours in recurrent major depression. *J Affect Disord*; 39:73-80, 1996.
24. PAPAKOSTAS GI, PETERSEN TJ, FARABAUGH AH, MURAKAMI JL, PAVA JA, ALPERT JE, FAVA M, AND NIERENBERG AA. Psychiatric comorbidity as a predictor of clinical response to nortriptyline in treatment-resistant major depressive disorder. *J clin Psychiatry*; 64(11):1357-61, 2003.
25. PLETSCHER A. The 5-hydroxytryptamine system of blood platelets: physiology and pathophysiology. *Int J Cardiol*; 14:177-188, 1987.
26. QUINTANA J. Platelet serotonin and plasma tryptophan decreases in endogenous depression. Clinical, therapeutic, and biological correlations. *Journal Affective Disord*; 24:55-62,1992.
27. RUSS MJ, ACKERMAN SH, BANAY-SCHWARTZ M, SHINDLEDECKER RD AND SMITH GP. Plasma tryptophan to large neutral amino acid ratio in depressed and normal subjects. *J Affective Disord*; 19: 9-14, 1990.
28. SARRIAS MJ, ARTIGAS F, MARTÍNEZ E, GELPI E, ALVAREZ E, URDINA C, CASAS M. Decreased plasma serotonin in melancholic

- patients: a study with clomipramine. *Biol Psychiatry*; 22:1429-1438, 1987.
29. SPREAUX-VAROQUAUX O, GAILLEDREAU J, VANIER B, BOTHUA D, PLAS J, CHEVALIER JF, ADVENIER C, PAYS M, BRION S. Initial increase of plasma serotonin: A biological predictor for the antidepressant response to clomipramine? *Biol. Psychiatry*. 1996;40:465-473.
30. SPINER ROBERT L., WILLIAMS, JANET B.W., AND GIBBON, MIRIAM, "Structured Clinical Interview for DSM-III-R Personality Disorders (SCID-II, 4/1/87)"
31. STAHL SM, CIARANELLO RD, BERGER PA. Platelet serotonin in schizophrenia and depression. *Adv Biochem Psychopharmacol*; 34: 183-198, 1982.
32. STAHL SM. THE HUMAN PLATELET. *Arch Gen Psychiatry*; 34: 509-516, 1977.
33. WIRZ-JUSTICE A, PÜHRINGER W. Increased platelet serotonin in bipolar depression and Hypomania. *J Neural Transmission*; 42:55-62, 1978.

PIES DE FIGURAS:

Figure 1. Hamilton's scale score averages in controls and patients, before and after the antidepressant treatment. Bars represent \pm standard error.

Figure 2. Beck's scale score averages in controls and patients, before and after the antidepressant treatment. Bars represent \pm standard error.

Figure 3. Weight averages in control and patients before and after the antidepressant treatment. Bars represent \pm standard error.

Figure 4. Amount of platelets in the whole blood preparation. Bars represent \pm standard error.

Figure 5. Serotonin concentration in the whole blood preparations. Bars represent \pm standard error, and asterisk represents significant differences ($p < 0.05$).

Figure 6. Serotonin concentration in platelets. Bars represent \pm standard error, and asterisk represents significant differences ($p < 0.05$).

Figure 7. Tryptophan concentration in the whole blood preparations. Bars represent \pm standard error.

