



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“EFECTO DE LOS PROBIÓTICOS EN LA ACTIVIDAD
ANTIDEPRESIVA DE ALGUNOS INHIBIDORES DE LA
RECAPTURA DE SEROTONINA EN UN MODELO DE
INDEFENSIÓN APRENDIDA EN RATONES”.**

**PARA OBTENER EL GRADO MAESTRO EN CIENCIAS
FARMACOBIOLOGICAS**

TESIS QUE PRESENTA

Lic. en Psic. Alan Hipólito Juárez Solano

DIRECTORA DE TESIS

DRA PATRICIA AGUIRRE BAÑUELOS

FEBRERO, 2022

El proyecto se realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Químicas perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

El programa de Maestría en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 003382, CVU: 841609 en el Nivel: En desarrollo. Número de registro de la beca otorgada por CONACyT:



SAN LUIS POTOSÍ, SLP.FEBRERO 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

“EFECTO DE LOS PROBIÓTICOS EN LA ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA DE ALGUNOS INHIBIDORES DE LA RECAPTIRA DESEROTONINA EN UN MODELO DE INDEFENSIÓN APRENDIDA EN RATONES”.

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA

LIC. EN PSICOLOGÍA: ALAN HIPÓLITO JUÁREZ SOLANO

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. PATRICIA AGUIRRE BAÑUELOS: _____

ASESORES:

M. EN C. MA. ESTHER FLORES MORENO: _____

DRA. CLAUDIA ESCUDERO LOURDES: _____

DR. JOSÉ PÉREZ URIZAR: _____

El proyecto se realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Químicas perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

El programa de Maestría en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 003382, CVU: 841609 en el Nivel: En desarrollo. Número de registro de la beca otorgada por CONACyT:756853



Efecto de los probióticos en la actividad antidepresiva de algunos inhibidores de la recaptura de serotonina en un modelo de indefensión aprendida en ratones por Juárez Solano Alan Hipólito se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

POSGRADO EN CENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

Tel: 826 23 00 ext6541+6540

San Luis Potosí, S.L.P.

11 de Febrero del 2022

**Comité académico del posgrado
En ciencias Farmacobiológicas
Facultad de Ciencias Químicas UASLP/UASLP
Presente**

Por el medio de la presente comunicamos que la tesis llevaba a cabo por el alumno de maestría Alan Hipólito Juárez Solano “Efecto de los probióticos en la actividad antidepressiva de algunos Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina” ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para dar inicio a los trámites correspondientes para su titulación, la cual tendrá lugar el próximo 18 de febrero del 2022 a las 18:00 Hrs, en el auditorio chico (G203) de la facultad

Atentamente

Dra. Patricia Aguirre Bañuelos: _____

Directora de tesis

M en C. Esther Flores Moreno: _____

Asesora.

Dra. Claudia Escudero Lourdes: _____

Asesora

Dr. José Pérez Urizar: _____

Asesor

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo y patrocinio para la realización de este proyecto de tesis.

Un agradecimiento especial a mi directora de tesis, la Dra. Patricia Aguirre Bañuelos por su apoyo, paciencia, motivación, dedicación y ser la primera en darme una oportunidad en la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP, para realizar estudios de posgrado en un área diferente a mi formación profesional, además agradezco especialmente al Dr. Sergio Andrés Ortiz Padilla por su ayuda en las técnicas de extracción de tejido cerebral utilizadas en el proyecto.

Agradezco sinceramente a la Dra. Claudia Escudero Lourdes, a la M. en C. Ma. Esther Flores Moreno y al Dr. José Pérez Urizar, quienes me asesoraron, por sus comentarios que enriquecieron este trabajo y mis perspectivas, así como por su apoyo y valiosa colaboración,

Un agradecimiento muy especial a mis padres y hermanas, quienes me apoyaron de manera constante e incondicional en toda mi vida y no dudaron de apoyar en varias ocasiones mis estudios en diferentes áreas y partes del país.

También quiero agradecer a Marine y Marion Fernández por su amistad sincera que ha perdurado tiempo y distancia, por último, quiero agradecer a la M. en C. Rosa Alejandra Hernández Esquivel por su incondicional apoyo emocional y académico durante todo el posgrado.

RESUMEN

El presente trabajo evaluó el efecto antidepresivo de fármacos fluoxetina y sertralina administrados con una combinación probiótica de *Lactobacillus Rhamnosus* y *Bifidobacterium longum*, cepas de bacterias ácido lácticas, así como la cuantificación de serotonina y triptófano en áreas del sistema nervioso central como hipocampo, tallo cerebral y áreas del sistema gastrointestinal como el yeyuno.

La metodología consistió en agrupar 48 ratones CD-1 en diferentes grupos experimentales los cuales recibieron tratamientos individuales de fármacos antidepresivos clásicos o combinación de dichos antidepresivos con probióticos, para una vez terminado el tratamiento realizar evaluaciones comportamentales para la cuantificación de conductas depresivas y el posterior sacrificio por guillotina para la extracción de regiones encefálicas y digestivas para la cuantificación de serotonina y triptófano, marcadores biológicos relacionados con la depresión, a través de un sistema de cromatografía líquida de alta resolución. Como resultado se mostró una disminución significativa en las conductas depresivas cuantificadas en las pruebas de suspensión de cola y natación forzada entre los grupos que recibieron tratamientos individuales de fluoxetina y sertralina o la combinación con el probiótico, pero se observaron las mismas diferencias significativamente altas en el grupo que recibió el probiótico solo en comparación con grupo control. Por otra parte, en el tejido cerebral los niveles de serotonina mostraron un aumento significativo en las estructuras del hipocampo y tallo cerebral, pero no en yeyuno en aquellos grupos que recibieron el tratamiento con probióticos independientemente si fue combinado con ISRS o únicamente los probióticos, en la cuantificación de triptófano se observaron cambios significativamente altos en los niveles de triptófano en las estructuras de hipocampo y tallo cerebral en aquellos grupos que recibieron tanto el tratamiento con ISRS o con triptófano, pero

sí de manera importante en el yeyuno por lo que aquellos grupos que recibieron un tratamiento con probióticos independientemente sí estuvo combinado con ISRS mostraron un aumento en los niveles de serotonina a nivel de sistema nervioso central y digestivo, además de una mayor biodisponibilidad del triptófano tanto en sistema nervioso central como en digestivo.

Estos datos nos pueden orientar hacia el entendimiento de la repercusión de la microbiota intestinal en las vías de generación de serotonina y su impacto final en la conducta antidepresiva, indicando que una dieta rica en probióticos puede mejorar la adaptación o alteración de mediadores como serotonina y su implicación en la conducta depresiva.

Palabras clave: Probióticos, depresión, animales, indefensión aprendida, serotonina, triptófano

SUMMARY

The present work evaluated the antidepressant effect of fluoxetine and sertraline drugs administered with a probiotic combination of lactobacillus Rhamnosus and Bifidobacterium longum, strains of lactic acid bacteria, as well as the quantification of serotonin and tryptophan in areas of the central nervous system such as the hippocampus, brain stem and areas of the gastrointestinal system such as the jejunum.

The methodology consisted of grouping 48 CD-1 mice into different experimental groups which received individual treatments of classical antidepressant drugs or a combination of these antidepressants with probiotics, for once the treatment was finished, behavioral evaluations were carried out to quantify depressive behaviors and subsequent sacrifice. by guillotine for the extraction of encephalic and digestive regions for the quantification of serotonin and tryptophan, biological markers related to depression, through a high resolution liquid chromatography system. As a result, a significant decrease in depressive behaviors quantified in the tail suspension and forced swimming tests was shown between the groups that received individual treatments of fluoxetine and sertraline or the combination with the probiotic, but the same significantly higher differences were observed in the group that received the probiotic alone compared to the control group.

On the other hand, in brain tissue, serotonin levels showed a significant increase in the structures of the hippocampus and brain stem, but not in the jejunum in those groups that received treatment with probiotics regardless of whether it was combined with SSRIs or only probiotics, in the quantification of tryptophan, significantly high changes were observed in the levels of tryptophan in the structures of the hippocampus and brain stem in those groups that received both treatment with SSRIs or with

tryptophan, but significant changes were observed in the jejunum, so that those groups that received treatment with probiotics regardless of whether it was combined with SSRIs showed an increase in serotonin levels at the level of the central nervous and digestive systems, in addition to a greater bioavailability of tryptophan in both the central nervous and digestive systems. These data can guide us towards understanding of the impact of the intestinal microbiota on the serotonin generation pathways and its final impact on antidepressant behavior, indicating that a diet rich in probiotics can improve the adaptation or alteration of mediators such as serotonin and its implication in depressive behavior.

Keywords: Probiotics, depression, animals, learned helplessness, serotonin, tryptophan

1.	INTRODUCCION	2
1.1	Serotonina	2
1.2	Tratamiento farmacológico de la depresión ISRS	2
1.3	Pruebas de evaluación antidepresiva	3
1.4	Eje microbiota-cerebro	4
1.5	Probióticos	5
2.	ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	6
3.	HIPÓTESIS	7
4.	OBJETIVOS.....	7
4.1	Generales.....	7
4.2	Específicos	7
5.	MATERIAL Y MÉTODOS	7
5.1	Reactivos	7
5.2	Equipos.....	7
5.3	Animales de experimentación.....	8
5.4	Grupos experimentales y diseño del estudio	8
5.5	Evaluación del efecto antidepresivo.	10
5.5.1	Prueba de suspensión de cola	10
5.5.2	Prueba de natación forzada.....	11
5.6	Extracción de serotonina y L-triptófano en tejidos	11
5.7	Metodo para cuantificar serotonina y L-triptófano mediante cromatografía líquida de alta resolución.....	12
6.	Análisis Estadístico	12
7.	Aspectos Éticos y de Bioseguridad.....	12
8.	RESULTADOS	13
8.1	Pruebas conductuales.....	13
8.1.1	Prueba de suspensión de cola.....	13
8.1.2	Prueba de natación forzada	14
8.2	Cuantificación de serotonina y L-triptófano	15
8.2.1	Cromatograma	15
8.2.2	Validación del método analítico	18
8.2.3	Serotonina	18
8.2.4	L-triptófano	20
8.2.5	Determinación de serotonina y triptófano en tejidos	21
9.	DISCUSION.....	26
10.	CONCLUSION.....	29
11.	BIBLIOGRAFIA.....	30

1. INTRODUCCION

La depresión es un conjunto de síntomas de predominio afectivo (tristeza patológica, apatía, anhedonia, desesperanza, decaimiento, irritabilidad, sensación subjetiva de malestar e impotencia frente a las exigencias de la vida), aunque, en mayor o menor grado, también están presentes síntomas de tipo cognitivo, volitivo y somático, por lo que podría hablarse de una afectación global psíquica y física, haciendo especial énfasis en la esfera afectiva. Cerca de 350 millones de personas sufren de depresión (OMS, 2013) y se prevé que sea considerada como la segunda enfermedad causante de discapacidad a nivel mundial. En México se ha estimado en una muestra en la Ciudad de México, que un 9.2 % de la población puede llegar a presentar síntomas de depresión (Maya-Mondragón y cols. 2019).

1.1 Serotonina

La etiología de la depresión está basada en evidencias que sugieren que principalmente neurotransmisores cerebrales como la serotonina pueden estar alterados, aunado a una disfunción de los receptores a serotonina y de la proteína transportadora de membrana para este neurotransmisor, que ayuda a regular su transmisión, eventos que pueden tener un papel en la génesis de esta enfermedad, por lo que constituyen uno de los principales objetivos de la terapia antidepresiva (Stahl, 1998). Otras hipótesis consideran que resultado de un proceso inflamatorio y oxidativo a nivel del sistema nervioso central, puede aumentar la activación de la enzima Indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO), que deriva y activa la vía metabólica del triptófano hacia la producción de ácido quinurénico y ácido quinolínico y por ende una reducción de serotonina (Müller y Schwartz, 2007).

1.2 Tratamiento farmacológico de la depresión ISRS

Los fármacos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) forman parte del tratamiento farmacológico de primera elección para tratar

trastornos del estado de ánimo y representan una ventaja terapéutica importante debido a su mecanismo selectivo, el cual carece de interacciones con receptores muscarínicos y adrenérgicos, disminuyendo riesgos en contracciones musculares y disminuyendo

el margen toxicológico en sobredosificaciones, debido a sus propiedades antidepresivas y bajos efectos secundarios, representan el 80% de los tratamientos totales para la depresión. El mecanismo de acción se basa en la disminución de la actividad de la bomba de recaptación presináptica de serotonina aumentando su disponibilidad en la hendidura sináptica, mejorando la comunicación neuronal en estructuras límbicas y sus proyecciones al lóbulo prefrontal, incrementando la transmisión serotoninérgica total, por estímulo de receptores 5-HT_{1A} y 5HT₇ en los núcleos de Rafé que son estructuras serotoninérgicas presentes en el tallo cerebral (Naumenko y cols., 2014). En este grupo de fármacos se encuentran: fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina, citalopram y escitalopram, de los cuales la sertralina ha mostrado una modesta ventaja en su actividad clínica con respecto a fluoxetina, fluvoxamina y paroxetina (Hansen y cols., 2005). La sertralina alcanza su concentración máxima en un tiempo de 4 a 8 horas., alcanzando concentraciones del estado estable a los 7 días, se une en un 98% a proteínas plasmáticas y se elimina a través de metabolismo de primer paso originando el metabolito N-desmetil-sertralina que es 8 veces menos activo que la sertralina. Ambos se metabolizan a cetonas, derivados hidroxilados y conjugados con el ácido glucurónico, que son excretados en proporciones similares por orina y bilis (Devane, y cols., 2002). La sertralina muestra características muy similares en la farmacocinética en ratas y perros (Tremaine y cols., 1989).

1.3 Pruebas de evaluación antidepresiva

Las pruebas de depresión en animales han presentado críticas debido a la dificultad para poder concretar si un animal presenta depresión o alguna conducta depresiva, sin embargo, existen características que nos mencionan es posible establecer parámetros conductuales en animales

similares a la depresión, dichos parámetros han demostrado cumplir con los criterios de repetibilidad y predictibilidad en múltiples ensayos por lo que actualmente son una herramienta útil para determinar si algún compuesto presenta actividad antidepresiva.

Existen diferentes pruebas de depresión que evalúan la capacidad de recibir un estímulo agradable como estímulos sexuales o agua azucarada, sin embargo,

aquellas pruebas que cuantifican la capacidad del animal para reaccionar a un estímulo aversivo presentan mayor nivel de repetibilidad.

La prueba de natación forzada es una evaluación en roedores que ha sido usada para evaluar el comportamiento de éstos ante un tratamiento con fármacos antidepresivos, así como su eficacia y la evaluación de nuevos compuestos con posible efecto antidepresivo.

La prueba de natación forzada es validada como un método experimental para evaluar la eficacia de los antidepresivos en los roedores. Los animales de experimentación se colocan en un tanque de agua y tratan de escapar, el tiempo que permanecen inmóviles se conoce como “Tiempo de inmovilidad” y es considerado una conducta depresiva que disminuye el tratamiento farmacológico antidepresivo.

1.4 Eje microbiota-cerebro

Recientemente se ha apreciado al microbiota como uno de los reguladores clave de la relación de la función intestino-cerebro a través del eje microbiota-intestino- cerebro. La microbiota y el cerebro se comunican entre sí a través de varias rutas, incluido el sistema inmunológico, el metabolismo del triptófano, el nervio vago y el sistema nervioso entérico, que involucran metabolitos microbianos como ácidos grasos de cadena corta, aminoácidos de cadena ramificada y peptidoglicanos (Clarke y cols., 2013). Existen muchos factores pueden influir en la composición del microbiota en la vida temprana, incluida una infección, el modo de parto, el

uso de antibióticos de amplio espectro, la naturaleza de la provisión nutricional, los factores de estrés ambiental y la genética del huésped. El estrés, en particular, puede afectar significativamente el eje microbiota-intestino-cerebro en todas las etapas de la vida. Este eje está tomando importancia en la investigación de las bases biológicas y fisiológicas de los trastornos psiquiátricos, del neurodesarrollo y neurodegeneración, por lo que muchos trabajos recientes han implicado a la microbiota intestinal en trastornos mentales (Rogers y cols., 2016).

1.5 Probióticos

Los probióticos se han definido como microorganismos que administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios a la salud del huésped (Morelli y Capurso, 2012). Estos pueden llegar a alterar al microbiota del organismo. Las bacterias más comunes relacionadas con la actividad probiótica son: *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. casei GG*; *Bifidobacterium brevis*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis*; *Streptococcus salivaris* subespecie *thermophilus*, y algunas variedades de levaduras como *Saccharomyces boulardii*. Los mecanismos de acción implicados incluyen modificar el pH volviéndolo inferior a 4, inhibición del crecimiento de bacterias patógenas, producción de ácido láctico, disminución de la permeabilidad intestinal, aumento en la actividad de la lactasa, efecto competitivo en otras bacterias patógenas, reducción en el tiempo de eliminación de rotavirus, incremento en la producción de los linfocitos T helper, y aumento de la inmunoglobulina A secretora (Maldonado y cols., 2019). Los mecanismos se basan específicamente en la interacción con células enterocromafines del tracto intestinal encargadas del almacenamiento y liberación de sustancias como triptófano y 5-HT que controlan la motilidad intestinal (Hará y cols., 2018), además de participar en la modulación de procesos inflamatorios al unirse en la pared del tracto intestinal, disminuyendo su permeabilidad y limitando el paso a agentes que promueven respuestas inflamatorias (Messaoudi y cols., 2011).

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Por sus características mencionadas anteriormente los probióticos se han propuesto como agentes complementarios terapéuticos en diferentes campos de la salud, incluyendo campos diversos como nutrición, medicina y psiquiatría, dada su participación en las vías de comunicación bidireccionales presentes en el sistema nervioso central y sistema nervioso entérico, donde se ha propuesto su participación como agentes que participan en la modificación de la conducta desarrollando el concepto de psicobióticos (Hara et al., 2018).

En estudios en animales, donde los modelos de depresión suelen ser más controlados, se ha demostrado la efectividad terapéutica de los probióticos para

disminuir alteraciones en las conductas depresivas, demostrado por marcadores biológicos relacionados con estas alteraciones como los niveles de cortisol que representan la actividad del eje hipotálamo, pituitaria, adrenal (Evrensel y cols., 2019).

Por otro lado, en estudios clínicos controlados se muestra que efectivamente los probióticos pueden disminuir significativamente la puntuación de la escala de depresión en pacientes (Huang y cols., 2016), aunque en otros estudios más recientes y con mayor rigor de metaanálisis, se observa que solo en aquellos pacientes que tomar medicamentos antidepresivos, los probióticos tienen un mayor efecto antidepresivo (Nikolova y cols., 2019).

Con estos datos, se propone el presente estudio, para evaluar el efecto de probióticos como *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactics* solos o en combinación con sertralina, para evaluar un posible sinérgico, en modelos de conductas depresivas en ratones.

3. HIPÓTESIS

El tratamiento de fluoxetina y sertralina combinada con la administración de probióticos presenta un aumento en el efecto antidepresivo en modelos murinos de conductas depresivas, al igual que un aumento de los niveles de serotonina y triptófano en sistema nervioso y digestivo.

4. OBJETIVOS

4.1 Generales

Evaluar el efecto antidepresivo de una combinación probiótica sola o en combinación con ISRS en modelo de conductas depresivas en ratones CD-1.

4.2 Específicos

1. Validar un método de cuantificación de serotonina y L-triptófano, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución.
2. Cuantificar serotonina y triptófano en intestino (yeyuno) y tallo cerebral e hipocampo de ratones tratados con fluoxetina, sertralina, probióticos y la combinación de éstos con probióticos.
3. Cuantificar las conductas depresivas utilizando la prueba de suspensión de cola.
4. Cuantificar las conductas depresivas utilizando la prueba de natación forzada.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Reactivos:

Clorhidrato de sertralina, fluoxetina (materia prima donado por Rayere SA), probióticos (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* y *Pediococcus pentosaceus*, L-triptófano y serotonina (Sigma), ácido perclórico, acetonitrilo y agua grado HPLC.

5.2 Equipos

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Waters® con bomba modelo auto inyector y detector de UV 2475. Homogeneizadora marca OMNI TH INTERNATIONAL, centrifuga marca Thermo Fisher.

5.3 Animales de experimentación

Se utilizaron 48 ratones CD-1, de edad de 6 semanas y aproximadamente de 25 a 30 g de peso, los cuales fueron adquiridos del Bioterio UNAM campus Juriquilla, Querétaro. Una vez que ingresaron al Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas, de la UASLP, pasaron 2 semanas para su ambientación antes de iniciar los tratamientos, fueron acomodados de 4 ratones en cada caja para evitar la agresión entre ellos. Los ratones tuvieron libre acceso a agua purificada y alimento Harlam®, con ciclos de luz y oscuridad controlados y temperatura a 25°C, durante todo el tiempo que duro el tratamiento experimental.

El protocolo experimental para uso de animales de experimentación fue revisado y aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Químicas mediante el protocolo con código CEID 2021-16.

5.4 Grupos experimentales y diseño del estudio

Los ratones fueron aleatorizados en 6 grupos experimentales, con un número experimental de 8 ratones c/u, los cuales se organizaron de la siguiente manera según su tratamiento:

Grupo	Tratamiento
Grupo 1	Control (agua)
Grupo 2	Probiótico (2×10^8 UFC/ mL)
Grupo 3	Fluoxetina (18 mg/kg)
Grupo 4	Fluoxetina (18 mg/Kg) /Probiótico (2×10^8 UFC/mL)
Grupo 5	Sertralina (30mg/Kg)
Grupo 6	Sertralina (30mg/Kg) / Probiótico (2×10^8 UFC/ mL)

Para los grupos 2, 4 y 6, los probióticos propuestos fueron (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* y *Pediococcus pentosaceus* se administró durante un periodo de 28 días continuos en el agua de beber, para ello se preparó una disolución del frasco comercial para obtener una concentración finalde 2×10^8 UFC/mL y si se considera que un

ratón ingiere aproximadamente 1 mL durante un día, se aseguró que la dosis de probiótico fuera completamente ingerida al día. En el día 21, se añadió a la solución de probióticos, la cantidad requerida de Fluoxetina para tener una concentración final de 0.07 mg/mL y la cantidad de Sertralina para obtener una solución de 0.12 mg/mL respectivamente.

Para los grupos experimentales 1, 3 y 5 los ratones solo recibieron 7 días continuos el tratamiento con agua, Fluoxetina 0.07 mg/mL y Sertralina 0.12 mg/mL respectivamente.

Después de los tratamientos, los ratones fueron evaluados mediante las pruebas conductuales y al finalizar se realizó la eutanasia por decapitación para la obtención del encéfalo (disección de hipocampo y tallo cerebral) y extracción del intestino, del cual se seleccionó la porción del yeyuno. Los tejidos obtenidos fueron enjuagados en solución salina fría y guardados en tubos eppendorf para su posterior análisis de cuantificación de serotonina y L-triptófano mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (Fig. 1).

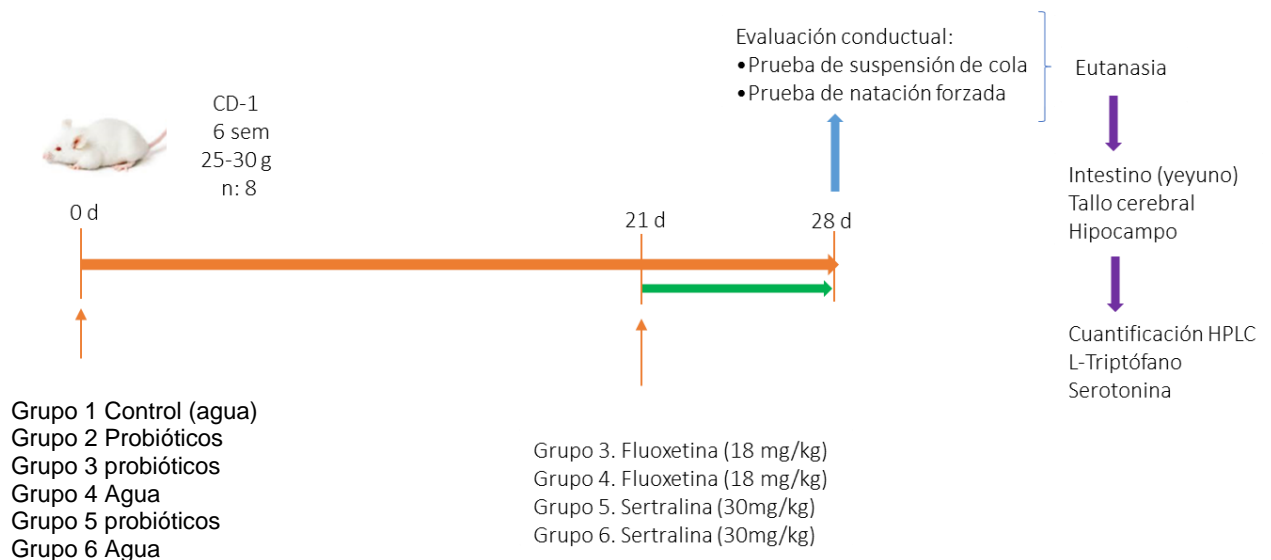


Fig. 1 Esquema del Diseño Experimental

5.5 Evaluación del efecto antidepresivo.

Los modelos animales nos ayudan a comprender mejor la etiología de enfermedades, desarrollar nuevos tratamientos e identificar marcadores para su diagnóstico, en la depresión los modelos animales presentan dificultades debido a la complejidad de la enfermedad y la comorbilidad tan amplia que presenta con otras patologías, actualmente se han identificado componentes que al interaccionar con ratones pueden generar síntomas depresivos por ejemplo; lipopolisacáridos (O'Connor et al., 2008) o sustancias exógenas como reserpina (Blasco-Serra et al., 2015), sin embargo también es ampliamente conocida la relación que presenta el estrés con la depresión, por lo tanto se usa el estrés para inducir síntomas depresivos en los animales, en este principio se basa el paradigma de la indefensión aprendida, donde los animales desarrollan pasividad ante un estímulo aversivo, tal pasividad presenta similitud con los síntomas de depresión y al cuantificarlos se toma como un referente a las conductas depresivas (Chourbaji et al., 2005).

La indefensión aprendida se deriva de las teorías cognitivas de la depresión que postulan que las representaciones desadaptativas de un individuo se activan por experiencias de vida aversivas y son fundamentalmente la etiología de la depresión, en animales se presentan diferentes características como pueden ser el aislamiento, disminución en la ingesta de comida y caída de pelo, los estímulos aversivos pueden ser estrés crónico, choques eléctricos o aislamiento social, al cuantificar las conductas desadaptativas, las cuales pueden ser representadas como; falta de deseo sexual, inmovilidad frente a estímulo aversivo o aversión a estímulos agradables, se toman como un marcador de depresión que presenta repetibilidad y validez, debido a la relación entre el estrés y la depresión ya mencionada.

5.5.1 Prueba de suspensión de cola

Esta prueba está basado en el concepto de “indefensión aprendida” el cual se define como un modelo de estrés que se encuentra establecido como una reacción inespecífica del organismo frente a las exigencias

ambientales, prácticamente el modelo consta de suspender al ratón 30 centímetros desde una base que sujeta la cola del ratón, de tal manera que carecerán de un lugar donde sujetarse, el ratón será suspendido durante 6 minutos, tiempo en el cual será monitoreado y grabado para la cuantificación de respuesta al estrés, la cual se expresa como inmovilidad. Al final del experimento, el tiempo de inmovilidad se expresó como porcentaje, respecto al tiempo total (6 minutos). La conducta depresiva se observa al desarrollar pasividad al estímulo aversivo, por ello la disminución en este porcentaje con respecto a un grupo control, se considera indicador de un efecto antidepresivo (Cryan y cols., 2005).

5.5.2 Prueba de natación forzada

La prueba de natación forzada también es una prueba similar a la de suspensión de cola, donde un estímulo estresante puede llegar a provocar una indefensión aprendida, en esta prueba el ratón se colocó en un cilindro de vidrio con altura de 25 cm y diámetro de 10 cm, donde se colocó agua a 10 cm a una temperatura de 21-23 °C. Los ratones comenzaron a nadar y cuantificó la conducta de inmovilidad,

se registró este tiempo y se calcula el porcentaje con respecto al tiempo total de 6 minutos, que dura la evaluación. El efecto antidepresivo se observa cuando el roedor disminuye el tiempo de inmovilidad con respecto al control (Recamier- Carballo y Fernández-Guasti, 2012).

5.6 Extracción de serotonina y L-triptófano en tejidos.

Posterior al sacrificio de los ratones, se realizó la extracción del encéfalo y en éste se realizó la disección de las áreas correspondientes al hipocampo y tallo cerebral, tejidos que fueron pesados inmediatamente y colectados individualmente en tubos eppendorf. De igual manera se extrajeron las porciones correspondientes al yeyuno de sistema digestivo cortando una porción de aproximadamente 200 µg del tejido, colocándose en tubos eppendorf. Los tejidos fueron congelados a -20 °C hasta su análisis. El tratamiento de los tejidos para la extracción de serotonina y L-triptófano

consistió en añadir un volumen de buffer de ácido perclórico 0.02M en la proporción 1:2 de peso tejido/ volumen de ácido, con la finalidad de precipitar las proteínas, para posteriormente ser homogenizado y centrifugado a 15000 rpm durante 10 min (REF). El sobrenadante fue separado y pasado a través de un filtro de 45 μ m, para finalmente ser inyectado al sistema de cromatografía líquida de alta resolución.

5.7 Método para cuantificar serotonina y L-triptófano mediante cromatografía de líquidos de alta resolución.

La cuantificación de serotonina y L-triptófano se realizó en un equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución, para ello se utilizó un equipo Waters®. Las condiciones cromatográficas optimizadas fueron: columna C18 (145 mm x 10 mm) marca Agilent®, Fase móvil (acetonitrilo: fosfato de potasio 0.5 M (90:10), flujo de 1.0 mL/min y detección por UV a 280 nm (Jagannathan y cols. 1995).

Para la validación del método analítico se determinaron los siguientes indicadores: linealidad, repetibilidad, exactitud, reproducibilidad y límite de cuantificación.

6. Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos, y con la finalidad de comparar los tratamientos, se realizaron pruebas de ANOVA de una vía seguida de una prueba de Dunnett para

comparar los diferentes grupos tratados vs control, definiendo una $p < 0.05$ para declarar diferencias significativas o Tukey para comparar todos los grupos, estableciendo una $p < 0.05$ para declarar diferencias significativas.

7. Aspectos Éticos y de Bioseguridad

Dado que el procedimiento experimental se realizó en la Unidad de Biociencias de la Facultad de Ciencias Químicas, el alumno siempre estuvo acompañado del asesor y siguiendo los procedimientos e indicaciones que se especificaron en la unidad. Además de seguir con las

instrucciones del manual de residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI), donde se especifica que, una vez terminada la parte experimental, los cadáveres de los animales se guardan en bolsas amarillas, para su disposición final.

El procedimiento analítico se realizó en el laboratorio de Farmacología, donde el alumno también se apegó a los procedimientos normalizados de operación en seguridad, que se incluyen en el Manual de seguridad, incluyendo uso obligatorio de cubrebocas, bata y otros equipos de protección personal como guantes y lentes de seguridad además de un correcto manejo de reactivos, mediante el registro en una bitácora de trabajo.

8. RESULTADOS

8.1 Pruebas conductuales

8.1.1 Prueba de suspensión de cola.

Como se muestra en la figura 2, se observa que el porcentaje de inmovilidad de los ratones del grupo control fue mayor en comparación con los grupos que recibieron el tratamiento, evento esperado, dado que este grupo no recibió ningún tratamiento que pudiera haber limitado esta conducta, por otra parte los grupos tratados con fluoxetina y sertralina muestran una disminución significativa de este indicador, por lo cual se comprueba el efecto de estos compuestos antidepresivos a las dosis administradas, sin embargo se observó un efecto antidepresivo mayor por la administración de probióticos combinados con fluoxetina y sertralina.

PRUEBA DE SUSPENSIÓN DE COLA

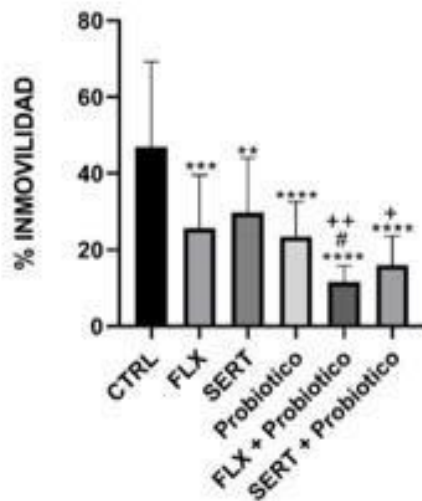


Figura 2: Porcentaje de tiempo de inmovilidad mostrado en los diferentes tratamientos, Simbología: ** $P < 0.05$ en comparación con grupo control, *** $P < 0.005$ en comparación con grupo control, **** $P < 0.0001$ en comparación con el grupo control, # Valor $P < 0.05$ con respecto a grupo tratado con fluoxetina, + $P < 0.05$ a comparación con grupo tratado con sertralina, ++ $P < 0.005$ a comparación al grupo tratado con sertralina, análisis Turkey-Kramer.

8.1.2 Prueba de natación forzada

En esta prueba de natación forzada (Fig. 3), se muestra que existen diferencias estadísticas de los tratamientos con respecto al control, donde se observó una disminución significativa en el porcentaje de inmovilidad en todos los tratamientos, tanto en aquellos que recibieron el tratamiento farmacológico de fluoxetina y sertralina, como en el grupo tratado con probiótico, y las combinaciones de tratamientos. La combinación de fluoxetina y probióticos es más efectiva que los tratamientos individuales, lo que demostró una sumatoria de efectos. Lo mismo se observó con la combinación de sertralina y probióticos.

PRUEBA DE NATACIÓN FORZADA

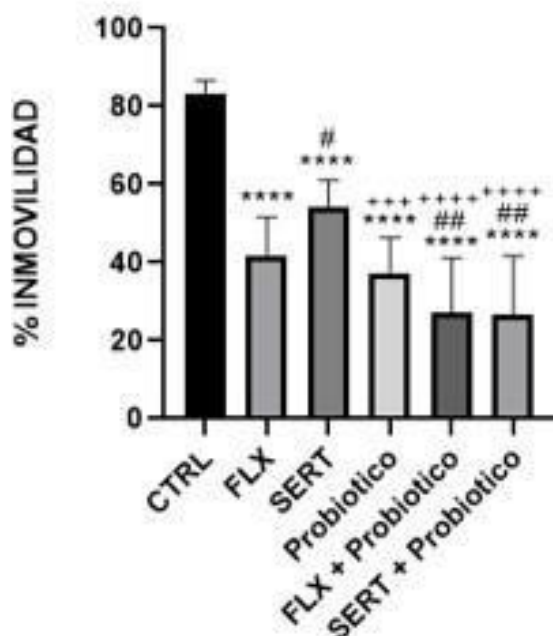


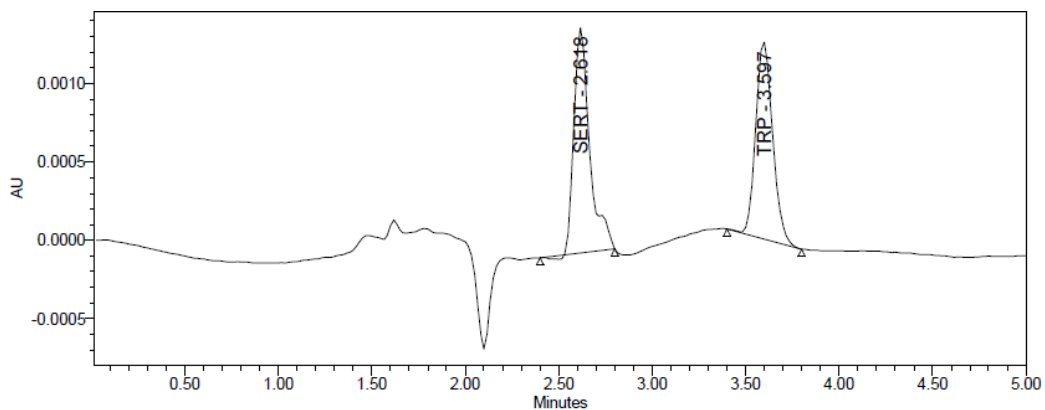
Figura 3: Análisis Turkey-Kramer **** Valor $P < 0.0001$ en comparación con grupo control, # Valor $P < 0.05$ comparación con grupo tratado con Fluoxetina, ## Valor $P < 0.005$ en comparación con grupo tratado con Fluoxetina, +++ Valor $P < 0.005$ en comparación con el grupo tratado con sertralina, - Valor $P < 0.05$ en comparación con grupo tratado únicamente con probióticos.

8.2 Cuantificación de serotonina y L-triptófano

8.2.1 Cromatograma

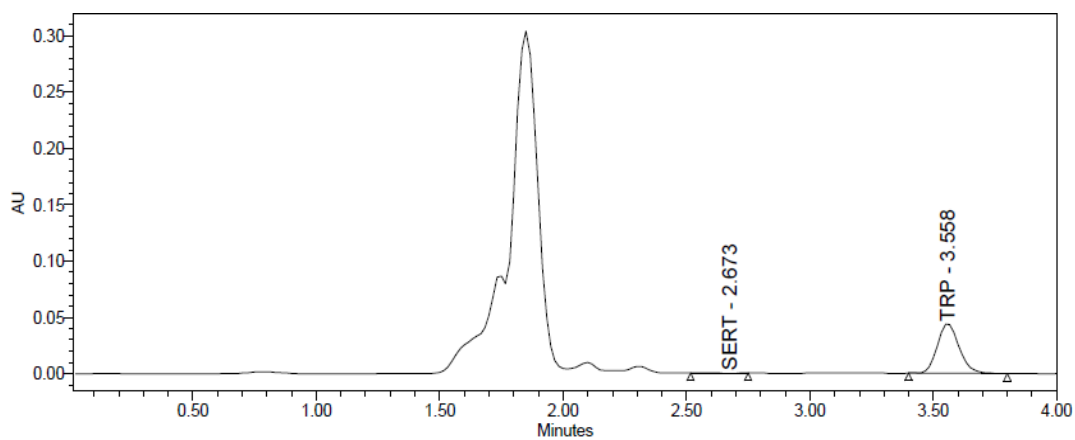
Como resultado de la optimización del método analítico para la determinación de serotonina y l-triptófano, se obtuvieron los siguientes tiempos de retención serotonina (2.6 min) y l-triptófano (3.6min) Fig. 4.

A



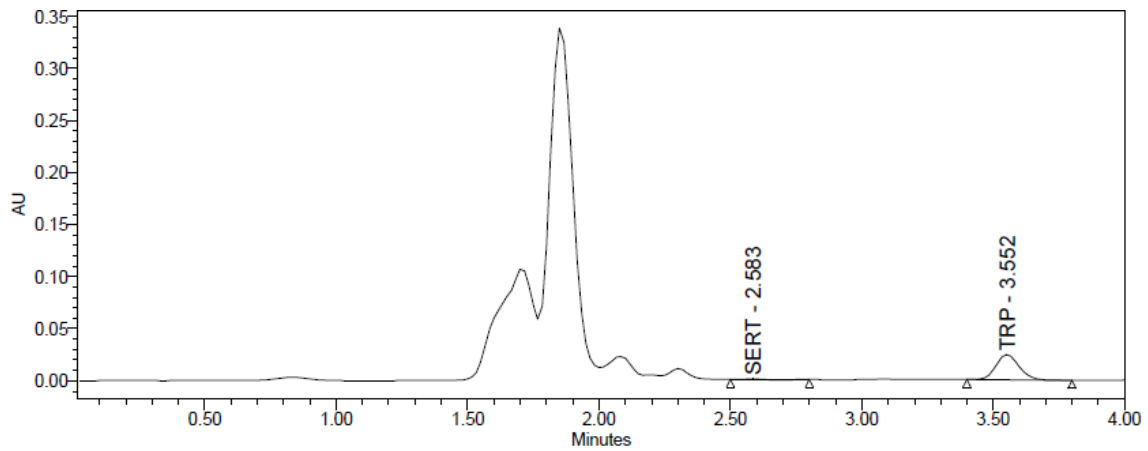
	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount
1	SERT	2.618	8547	51.94	1424	0.500
2	TRP	3.597	7909	48.06	1251	0.500

B



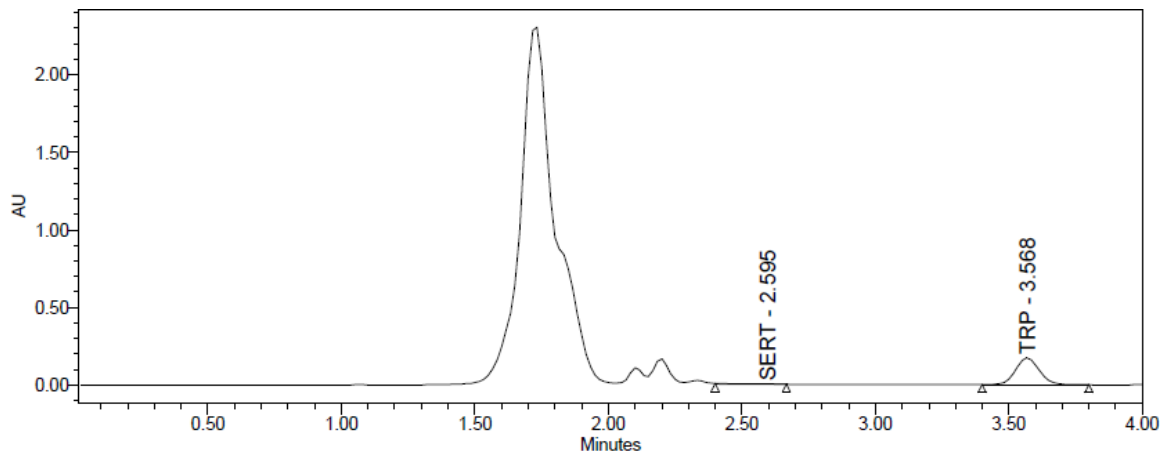
	Peak Name	RT	Area	% Area	Amount
1	SERT	2.673	2577	0.95	0.101
2	TRP	3.558	269160	99.05	15.759

C



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount
1	SERT	2.583	4432	2.88	568	0.209
2	TRP	3.552	149307	97.12	24432	8.735

D



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount
1	SERT	2.595	23135	2.10	2481	1.290
2	TRP	3.568	1077641	97.90	173993	63.137

Fig 4. Cromatogramas correspondientes a una inyección de estándares (a) y a una muestra de tejidos analizadas de hipocampo (b), tallo cerebral (c) y yeyuno (d).

8.2.2 Validación del método analítico

El método de cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de serotonina y L-triptófano fue validado, mediante los siguientes parámetros: linealidad que consiste en la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido. Esta se determina mediante una regresión lineal de la función de la señal como unidad de absorbancia y las concentraciones para obtener la ecuación de la línea que muestre la intersección y pendiente. Además de indicar los residuales como el coeficiente de correlación R^2 . La exactitud, se refiere al cálculo del porcentaje del analito recuperado o por la diferencia entre el valor obtenido y el valor real. La precisión se define como el grado de coincidencia entre los resultados de las muestras individuales de una muestra homogénea dentro del intervalo de cuantificación en el método. Con datos obtenidos de 5 inyecciones repetidas se puede determinar la exactitud y precisión o repetibilidad, este último evaluado como el porcentaje del coeficiente de variabilidad. La reproducibilidad también implica la determinación de precisión, pero con la variabilidad de día a día. El límite de cuantificación es la menor cantidad del analito en una muestra que puede determinarse con precisión y exactitud aceptable bajo las condiciones, se realiza con un valor en el cual la relación entre señal y ruidos es 10.

8.2.3 Serotonina

Para la determinación de serotonina, la validación indicó los siguientes parámetros: Linealidad del rango de concentración de 0.05 $\mu\text{g/mL}$ a 75 $\mu\text{g/mL}$, ecuación de línea de regresión de 3 determinaciones: $y=12831x-565.91$, $R^2=0.9998$ (Fig. 5).

La repetibilidad y exactitud, así como la reproducibilidad se muestran en las Tablas 1 y 2. Límite de cuantificación 0.01 $\mu\text{g/mL}$.

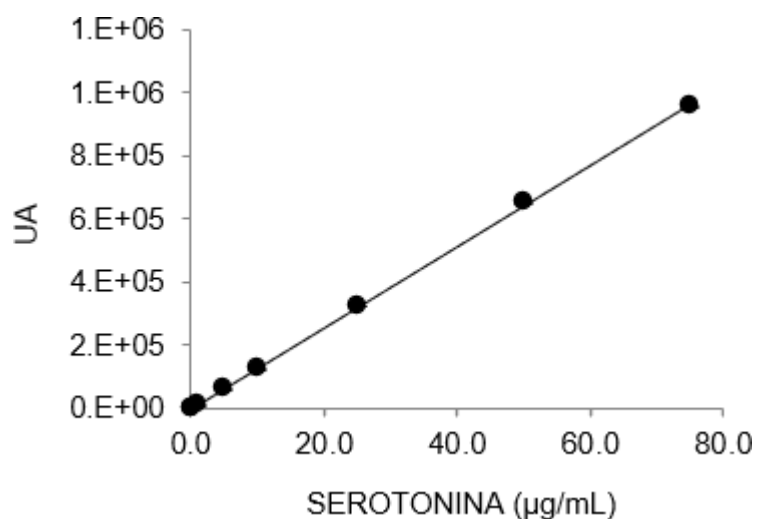


Figura 6 Curva de calibración de serotonina

Concentración (µg/mL)	Promedio (µg/mL)	Desviación estándar (µg/mL)	Coefficiente de Variabilidad (%)	Exactitud (%)
2.5	2.71	0.08	3.04	-7.73
7.5	7.89	0.34	4.31	-4.12
60.0	62.03	0.77	1.24	-3.27

Tabla 1 Repetibilidad y Exactitud

Concentración (µg/mL)	Promedio (µg/mL)	Desviación estándar (µg/mL)	Coefficiente de Variabilidad (%)
2.5	2.69	0.08	3.05
7.5	7.81	0.36	4.06
60.0	61.96	0.71	1.15

Tabla 2 Reproducibilidad

8.2.4 L-triptófano

Para la determinación de L-triptófano se obtuvieron los siguientes parámetros: Linealidad del rango de concentración de 0.1 µg/mL a 100 µg/mL, ecuación de línea de regresión de 3 determinaciones: $y=12427x-2619.8$, $R^2=0.9997$ (Fig. 7).

La repetibilidad y exactitud, así como la reproducibilidad se muestran en las Tablas 1 y 2. Límite de cuantificación 0.05 µg/mL.

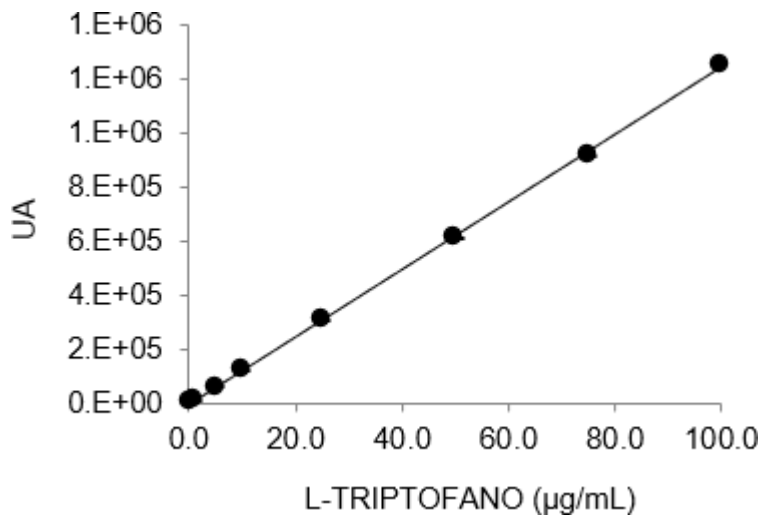


Fig 7 Curva de calibración de L-triptófano

Concentración (µg/mL)	Promedio (µg/mL)	Desviación estándar (µg/mL)	Coefficiente de Variabilidad (%)	Exactitud (%)
2.5	2.98	0.07	2.21	-19.05
7.5	7.83	0.21	2.74	-4.44
60.0	60.90	0.9	1.48	-1.50

Tabla 1 Repetibilidad y Exactitud

Concentración (µg/mL)	Promedio (µg/mL)	Desviación estándar (µg/mL)	Coefficiente de Variabilidad (%)
2.5	2.96	0.07	2.31
7.5	7.80	0.21	2.70
60.0	60.54	1.19	1.96

Tabla 2 Reproducibilidad

8.2.5 Determinación de serotonina y triptófano en tejidos

Los datos de área bajo la curva de los cromatogramas correspondientes de los diferentes tejidos extraídos de los ratones de los diferentes grupos experimentales, fueron interceptados en la curva de calibración para la obtención de la concentración, ese valor posteriormente fue transformado a cantidad en el volumen final donde fue diluido el tejido, esa cantidad se dividió en los mg del tejido que se analizó.

Los datos fueron promediados por cada grupo experimental, se calculó también el error estándar y se graficaron, indicando su análisis estadístico.

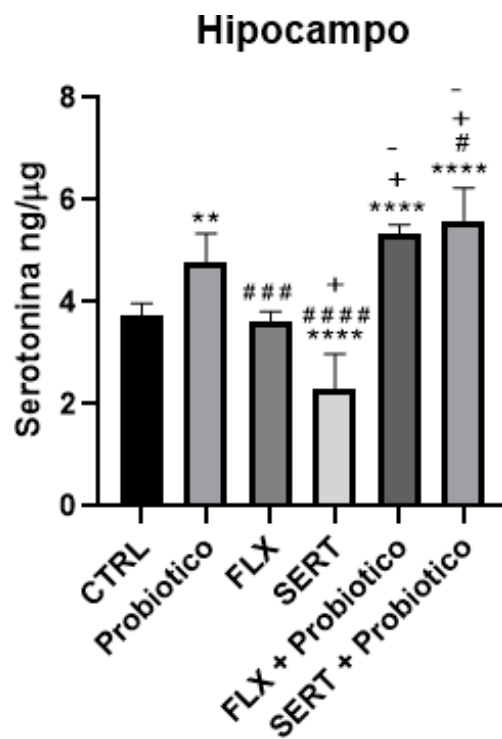


Figura 8: Análisis Turkey-Kramer concentración de serotonina en hipocampo de ratón, ** P<0.005, **** P<0.0001 a comparación con el grupo control, # P<0.05, ### P<0.0005, ##### P<0.0001 a comparación con el grupo tratado con probióticos, + P<0.05 a comparación con el grupo tratado con fluoxetina, - P<0.05 a comparación con el grupo tratado con sertralina.

En la figura 8 se muestra los diferentes grupos y niveles de serotonina a nivel del hipocampo, se observaron aumentos significativos en los grupos que recibieron el tratamiento con probióticos independientemente si fue el tratamiento individual o con un ISRS, esto nos indica que los probióticos, como se esperaba, aumentan los niveles de serotonina a nivel del sistema afectivo, datos reportados con anterioridad, aunque en el caso de los ISRS no se mostraron diferencias significativas, lo que podría indicar que el tratamiento individual de fluoxetina o sertralina careció de un efecto antidepresivo debido al poco tiempo de administración.

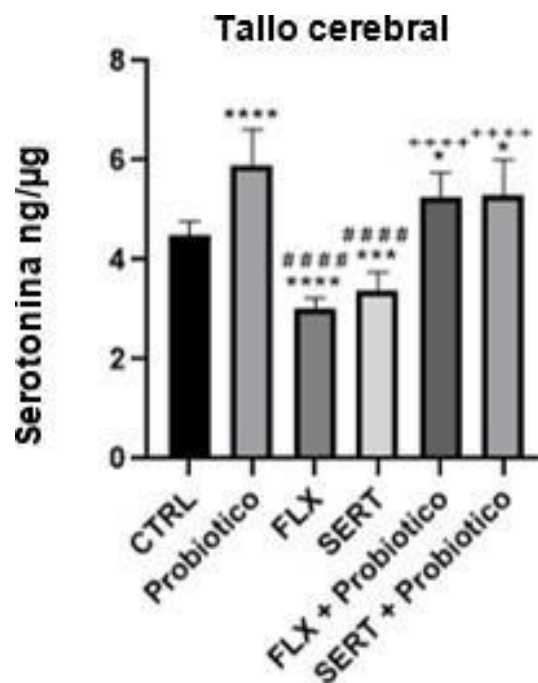


Figura 9: Análisis Turkey-Kramer, concentración de serotonina en tallo cerebral * P<0.05, *** P<0.0005, **** P<0.0001 a comparación con el grupo control, #### P<0.0001 a comparación con el grupo tratado con probióticos, ++++ P<0.0001 a comparación con el grupo tratado con fluoxetina.

En la figura 9 se muestran los niveles de serotonina a nivel del tallo cerebral, región que contiene los núcleos del Rafé, núcleos cerebrales que metabolizan el triptófano a serotonina, al igual que en la figura 8 se mostró un aumento significativo en

aquellos grupos que recibieron el tratamiento con probióticos independientemente si fue individual o en conjunto con un ISRS, lo que se interpreta como un aumento general de serotonina a nivel del sistema nervioso central provocado por los probióticos.

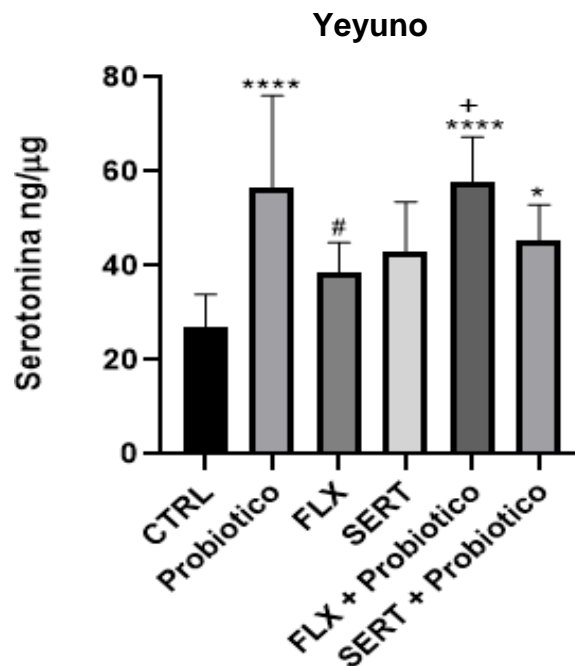


Figura 10: Análisis Turkey-Kramer, concentración de serotonina en yeyuno, **** P<0.0001 a comparación con el grupo control, # P<0.05 a comparación con el grupo tratado con probióticos, + P<0.05 a comparación con el grupo tratado con fluoxetina.

En la figura 10 se muestran los niveles de serotonina a nivel de sistema digestivo, específicamente en el área de yeyuno, a diferencia de las figuras 8 y 9, se observa un aumento significativo de serotonina en todos los tratamientos tanto con probióticos como con los ISRS, sin embargo, los probióticos muestran a su vez un aumento significativo a comparación con los grupos tratados con ISRS.

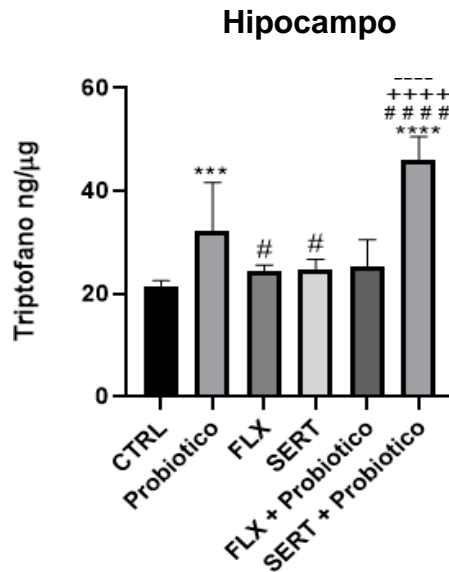


Figura 11: Análisis Turkey-Kramer, concentración de triptófano en hipocampo, *** $P < 0.0005$, **** $P < 0.0001$ a comparación con el grupo control, #### $P < 0.0001$ a comparación con el grupo tratado con probióticos, +++++ $P < 0.0001$ a comparación con el grupo tratado con fluoxetina, $P < 0.0001$ a comparación con el grupo tratado con sertralina.

En la figura 11 se muestra los niveles de triptófano y los diferentes tratamientos a nivel de hipocampo, se mostró un aumento significativo en aquellos grupos que recibieron el tratamiento con probióticos, el triptófano es un aminoácido que se obtiene a través de la dieta, el triptófano no puede aumentar por la ingesta de probióticos, sin embargo, los aumentos pueden atribuirse a una mayor biodisponibilidad del aminoácido.

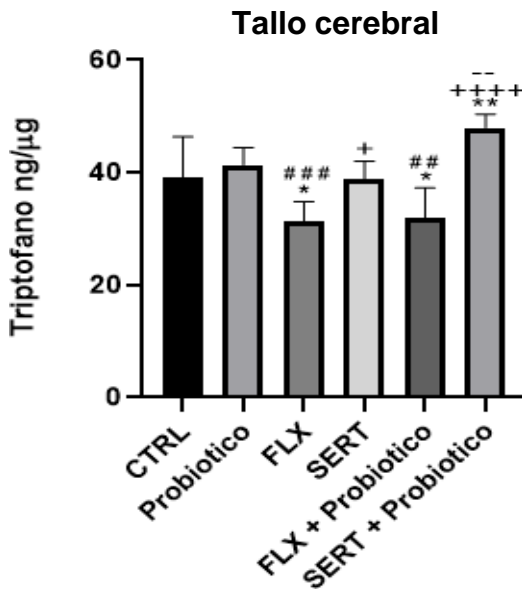


Figura 12: Análisis Turkey-Kramer, concentración de triptófano en tallo cerebral de ratón, * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$, **** $P < 0.0001$ a comparación con el grupo control, # $P < 0.05$, ## $P < 0.005$ a comparación con el grupo tratado con probióticos, + $P < 0.05$, ++++ $P < 0.0001$ a comparación con el grupo tratado con fluoxetina, -- $P < 0.005$ a comparación con el grupo tratado con sertralina.

En la figura 12 se muestran las concentraciones de triptófano a nivel del tallo cerebral, no se mostraron aumentos estadísticamente significativos a comparación con el grupo control a excepción del grupo que recibió la combinación probiótica con sertralina, esto podría deberse a la presencia de los núcleos del Rafé que metabolizan el triptófano a serotonina disminuyendo la presencia del aminoácido.

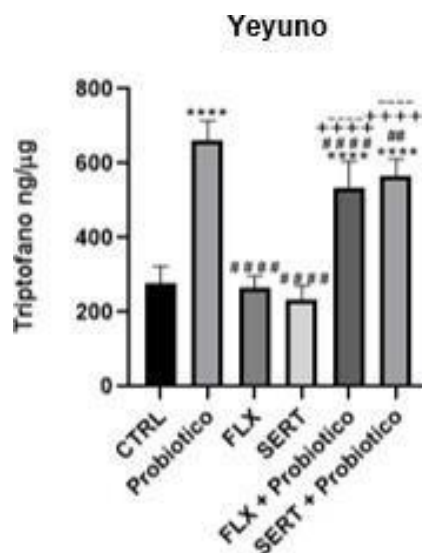


Figura 13: Análisis Turkey-Kramer, concentraciones de triptófano en yeyuno, **** $P < 0.0001$ a comparación con el grupo control, ## $P < 0.005$, #### $P < 0.0001$ a comparación con el grupo tratado con probióticos, $P < 0.0001$ a comparación con el grupo tratado con fluoxetina, $P < 0.0001$ a comparación con el grupo tratado con sertralina.

En la figura 13 se muestran aumentos estadísticamente significativos en aquellos grupos que recibieron el tratamiento con los probióticos independientemente si lo recibieron de forma individual o combinada con ISRS, esto indica mayor biodisponibilidad del aminoácido provocada por el tratamiento con probióticos, y por acción de la enzima triptófano hidroxilasa la mayor biodisponibilidad del triptófano aumentaría los niveles de serotonina como se mostró en las figuras 8 y 9.

9. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antidepresivo de ISRS con una combinación probiótica en un modelo de indefensión aprendida los resultados del presente estudio muestran una disminución del porcentaje de inmovilidad en las pruebas comportamentales de indefensión aprendida

en los tratamientos administrados de fluoxetina (18 mg/kg), sertralina (30mg/kg) y la combinación de probióticos 2×10^8 UFC/ mL, efecto considerado antidepresivo en este tipo de modelos, datos reportados en bibliografía revisada con anterioridad (McVey Neufeld et al., 2018a).

La disminución de las conductas depresivas en aquellos grupos que recibieron un ISRS con la combinación probiótica puede atribuirse a los múltiples mecanismos de acción de los probióticos que dan la pauta para utilizarse en un tratamiento combinado. Entre los diferentes mecanismos de los probióticos asociados a su efecto antidepresivo destacan la disminución de citocinas proinflamatorias características del trastorno depresivo (Park et al., 2018), el aumento en serotonina y su proteína transportadora SERT a nivel de sistema nervioso central y en sistema digestivo (Borrelli et al., 2016) (Yaghoufar et al., 2020) y disminución en la reactividad del eje Hipotálamo-Pituitaria- Adrenal (HPA) (Ait-Belgnaoui et al., 2014).

Sin embargo, el tratamiento con probióticos presenta la desventaja de necesitar mayor tiempo de administración a comparación con los ISRS, ya que mientras el tratamiento farmacológico ha demostrado sus efectos antidepresivos a partir de siete días en modelos animales, los probióticos necesitan una administración para asegurar los efectos antidepresivos de 28 días (McVey Neufeld et al., 2018b), lo anterior dificulta la posibilidad de utilizar probióticos como un tratamiento alternativo que reemplace a los antidepresivos tradicionales, sin embargo es posible utilizarlo como un tratamiento adyuvante (Logan & Katzman, 2005), que resalte el efecto terapéutico de los ISRS.

Existen diferentes estudios sobre la eficacia terapéutica de los probióticos en pacientes con trastornos mentales, diseños aleatorizados con pacientes diagnosticados con trastornos del estado de ánimo que al recibir un tratamiento probiótico han mejorado sus puntuaciones en escalas de

depresión, ansiedad y fatiga crónica (Pirbaglou et al., 2016) (Huang et al., 2016) (RT et al., 2019).

En el presente proyecto únicamente se observaron cambios en las conductas depresivas, por lo que existen limitantes de marcadores moleculares relacionados con la depresión como citocinas proinflamatorias (Raison et al., 2006), alteraciones

en el metabolismo del triptófano (Ramírez et al., 2018) e hiperactividad del eje HPA (Pariante & Lightman, 2008), por lo que el mecanismo específico por el cual los ISRS con una combinación probiótica disminuyen la conducta depresiva con mayor efectividad no está completamente identificado, aunque existen estudios que reportan la disminución de la reactividad del eje HPA con la administración de probióticos *Lactobacillus Rhamnosus* por un periodo de 28 días utilizando ratones de la cepa Balb/c (McVey Neufeld et al., 2018b), y el realizado por (Dinan & Cryan, 2012) aunque, no se ha encontrado el mecanismo específico de acción por el cual la combinación de ISRS con probióticos éste ofrece una ventaja terapéutica.

Otra limitante es el modelo de depresión, en animales, ya que la depresión es un concepto que carece de cuantificación, es considerada una conducta compleja, sin embargo es posible cuantificar las conductas depresivas partiendo del concepto de indefensión aprendida y categorizar conductas depresivas tomando en cuenta la pasividad que se desarrolla a un estímulo aversivo (RT et al., 2019), como pueden ser corriente eléctrica, suspensión de cola, natación forzada o simplemente un conjunto de estímulos aversivos que se repetirán constantemente con un tiempo prolongado, (Peterson, 2010) al igual que un modelo de cuantificación químico es necesaria la validación tomando en cuenta conceptos como repetitividad, confiabilidad y especificidad, sin embargo existen modelos de depresión farmacológicos, modelos de estrés crónico que a su vez han sido relacionados con el aumento de la respuesta inmunológica innata (Raison et al., 2006) y modelos de depresión basados en una dieta alta en

grasa que han reportado ser modelos de depresión resistentes a los ISRS (Isingrini et al., 2010), en el presente estudio únicamente se utilizó el concepto de indefensión aprendida utilizando las pruebas de suspensión de cola y natación forzada, al utilizar diferentes modelos de depresión resistentes a ISRS daría la pauta para saber si los probióticos ofrecen una ventaja con respecto al tratamiento individual.

Con respecto a los marcadores de serotonina a nivel de sistema nervioso central, se observaron aumentos significativos en aquellos grupos que recibieron el tratamiento con probióticos independientemente si fue combinado con un ISRS o si

recibieron únicamente el tratamiento con probióticos, sin embargo el tratamiento con ISRS parece carecer de efecto, por lo que se concluye el tratamiento con ISRS no alcanza un efecto terapéutico en las concentración y tiempo administrado en el presente estudio, aun así el tratamiento con probióticos presenta características para ser considerado un tratamiento antidepresivo, las concentraciones de triptófano también aumentaron, dichos datos pueden atribuirse a una mayor biodisponibilidad del aminoácido y no por una mayor ingesta del mismo, sin embargo es necesario realizar estudios moleculares y con un control estricto en la dieta para saber si la biodisponibilidad del triptófano fue causada por disminución en vías alternas del triptófano o por alguna otra vía no identificada.

10. CONCLUSION

El tratamiento con probióticos disminuyó el tiempo de inmovilidad en las pruebas de suspensión de cola y natación forzada, esto es considerado un efecto antidepresivo que ya ha sido reportado con anterioridad, ya que los datos son consistentes con otros estudios realizado en cepas de ratones distintas, sin embargo la cepa de ratones CD-1 no había reportado estos cambios comportamentales atribuidos a los probióticos, el efecto antidepresivo de la combinación probiótica se mostró similar a los ISRS en

la prueba de suspensión de cola, e incluso mayor a la sertralina en la prueba de natación forzada, por lo que se concluye que, en la cepa CD-1 de ratones, que la combinación de ISRS con probióticos da lugar a un efecto antidepresivo significativamente superior al obtenido con los tratamientos individuales, datos no reportados en la literatura revisada.

Las mayores concentraciones de serotonina se han atribuido a los probióticos, sin embargo, el aumento de triptófano podría deberse a la disminución de vías alternas del triptófano, como puede ser la vía de la kinurenina o a la propia ingesta de probióticos que al ser organismos vivos presentan aminoácidos en su composición, sin embargo, dicha información no se incluyó en los objetivos del estudio.

11. BIBLIOGRAFIA

Benfield P., Heel RC., Lewis SP. Fluoxetine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in depressive illness. *Drugs*. 1986. 32 (6):481-508.

Brunton L., Knollmann B., Hilal-Dandan R. Goodman, and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 2018. 13th Edition.

Clarke, G., Gresham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry*, 2013. 18(6), 666–673.

Cryan, J. F., Mombereau, C., & Vassout, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2005. 29, 4–5, 571–625.

DeVane CL., Liston HL., Markowitz JS. Clinical pharmacokinetics of sertraline. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41(15):1247-66.

Evrensel A., Önen Ünsalver, B., Ceylan, ME. Therapeutic Potential of the Microbiome in the Treatment of Neuropsychiatric Disorders. *Medical Sciences*, 2019. 7(2), 21.

Hansen R, Gartlehner G, Lohr K, Gaynes B, Carey T. Efficacy and safety of second- generation antidepressants in the treatment of major depressive disorder. *Ann InternMed*. 2005,143:415-26.

Hara, T., Mihara, T., Ishibashi, M., Kumagai, T., & Joh, T. Heat-killed *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 327 promotes colonic serotonin synthesis in mice. *Journal of Functional Foods*, 2018. 47, 585–589.

Huang R, Wang K, Hu J. Effect of Probiotics on Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients*. 2016. 6;8(8):483.

Jagannathan V., Marck C., Venitz J. Determination of unpurified L-tryptophan in human plasma using high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Biomedical Chromatography*. 1995. 9, 3025-308.

Maldonado Galdeano C, Cazorla SI, Lemme Dumit JM, Vélez E, Perdigón G. Beneficial Effects of Probiotic Consumption on the Immune System. *Ann Nutr Metab*.2019. 74(2):115-124.

Maya-Mondragón J, Sánchez-Román FR, Palma-Zarco A, Aguilar-Soto M, Borja- Aburto VH. Prevalence of Post-traumatic Stress Disorder and Depression After the September 19th, 2017 Earthquake in Mexico. *Arch Med Res*. 2019. 50(8):502-508.

Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdí, A., Bisson, J. F., Rougeot, C., Pichelin, M., Cazaubiel, M., & Cazaubiel, J. M. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *British Journal of Nutrition*. 2011. 105(5), 755–764.

Morelli, L. & Capurso, L. FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later.

J. Clin.Gastroenterol. 2012. 46, 10–11.

Müller, N., Schwarz, M. The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. *Mol Psychiatry* 2007. 12, 988–1000.

Naumenko VS, Popova NK, Lacivita E, Leopoldo M, Ponimaskin EG. Interplay between serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors in depressive disorders. *CNS Neurosci Ther.* 2014. 20 (7): 582-90.

Nikolova V, Zaidi SY, Young AH, Cleare AJ, Stone JM. Gut feeling: randomized controlled trials of probiotics for the treatment of clinical depression: Systematic review and meta-analysis. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2019. 26;9:20-45.

Recamier-Carballo, S., & Fernández-Guasti, A. (2012). Forced swimming and chronic mild stress as animal models of depression. *Behavioral animal models. Kerala, India: Research Signpost*, 123-137.

Rogers GB, Keating DJ, Young RL, Wong ML, Licinio J, Wesselingh S. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry.* 2016. 21(6):738-48.

Stahl SM. Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *J Affect Disord.* 1998. 51(3):215-35.

Tremaine LM, Welch WM, Ronfeld RA. Metabolism and disposition of the 5- hydroxytryptamine uptake blocker sertraline in the rat and dog. *Drug Metab Dispos.* 1989 Sep-Oct;17(5):542-50. PMID: 2573498.

World Health Organization. Depression. Geneva: World Health Organization; 2013.