



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

MARCADORES BIOQUÍMICOS DE DEPRESIÓN

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: LAURA CONTRERAS MONTERO
PROFESORA GUÍA: TM MgCs ROXANA ORREGO CASTILLO**

**TALCA-CHILE
2020**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

AGRADECIMIENTOS

Para cualquiera que lea esta memoria, escribir todo un documento no es fácil, sobre todo si se elige ir contra el tiempo, requiere de paciencia y perseverancia y saber que siempre se puede seguir adelante, aunque parezca imposible.

Quisiera agradecer a mis padres que han apoyado y me han aguantado en todo este trayecto, además de creer en mi incluso cuando yo no lo hacía, a mi hermana Cintia que me ha ayudado y ha sido mi confidente incluso en momentos de crisis y a la Profesora Roxana, que aceptó ser mi profesora guía, a pesar de no ser la mejor alumna ni la más responsable, muchas gracias por ayudarme y ser mi inspiración en el laboratorio.

1. ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDOS	PÁGINAS
1. Índice de contenidos	2
2.1 Índice de Tablas	4
2.2 Índice de Figuras	4
3. Glosario de Términos	5
4. Resumen	6
5. Introducción	7
6. Objetivos	8
6.1 Objetivo General	8
6.2 Objetivos específicos	8
7. Metodología de búsqueda	9
8. Marco teórico	10
8.1 Depresión	10
8.1.1 Epidemiología de depresión mundial y nacional	10
8.2 Síndrome vegetativo	12
8.3 Biomarcadores	14
8.3.1 Hipótesis inmunoinflamatoria en depresión	15
8.3.2 Citoquinas inflamatorias	17
8.3.3 Factores de crecimiento	20
8.3.4 Neuropeptidos hipotalámicos	22
8.3.4.1 Neuropeptido Y	22
8.3.4.2 Nesfatina 1	24
8.3.5 Leptina	26
8.3.6 Ghrelina	28
8.3.7 Orexinas	30
8.3.8 Insulina	31
8.3.9 Cortisol	33
8.4 Medición de biomarcadores para evaluar trastornos depresivos	35
8.4.1 Tipo de muestra	35
8.4.2 Métodos de medición de biomarcadores asociados a trastornos depresivos	36

8.4.2.1 Métodos inmunológicos	37
8.4.2.2 Métodos cromatográficos	38
8.4.3 Medición de citoquinas inflamatorias	37
8.4.4 Medición de Factores de crecimiento	39
8.4.5 Medición de Neuropeptido Y	40
8.4.6 Medición de Nesfatina 1	41
8.4.7 Medición de Leptina	44
8.4.8 Medición de Ghrelina	44
8.4.9 Medición de Orexina	44
8.4.10 Medición de Cortisol	45
8.4.10.1 Muestras para medición de Cortisol	49
8.4.10.2 Kits de análisis para Cortisol	50
9. Conclusiones	55
10. Referencias bibliográficas	57

2.1 ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO	PÁGINA
Tabla 1: Prevalencia de síntomas de depresión por grupos de edad y sexo. Chile 2009-2010.	6
Tabla 2: Resumen Biomarcadores y sus métodos de medición.	52

2.2 ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PÁGINA
Figura 1. Modelo biológico de la depresión y BDNF.	14
Figura 2. Posibles mecanismos de los efectos inflamatorios de las citoquinas en los sistemas de neurotransmisores BDNF, monoamina, glutamato y cerebro.	17
Figura 3. Sitios potenciales para la regulación de respuestas fisiológicas y de comportamiento relevantes para condiciones comórbidas por NPY.	21
Figura 4. Anatomía de la glándula suprarrenal.	36
Figura 5. Esquema de procedimiento kit de ELISA SimpleStep.	49
Figura 6. Muestreo rápido de saliva y proceso de detección de inmunoensayo en chip.	52

3. GLOSARIO DE TÉRMINOS

SIGLA	SIGNIFICADO
MAO	Monoamino oxidasa
CRH	Hormona liberadora de corticotropina
CRF	Factor liberador de corticotropina
MDD	Trastorno depresivo mayor
DSM-5	Manual de diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
IL-6	Interleuquina 6
NF-kB	Factor nuclear kappa B
PGE2	Ciclooxigenasa 2
NO	Óxido nítrico
LCR	Líquido cefalorraquídeo
IL-1	Interleuquina 1
TNF α	Factor de necrosis tumoral alfa
PCR	Proteína C reactiva
PTSD	Trastorno por estrés postraumático
ACH	Hormona adenocorticotropina
LEPR	Receptor de leptina
Ig	Inmunoglobulina
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico
TMB	Tetrametilbencidina
CAR	Respuesta del cortisol al despertar
LOC	Lab on a chip

4. RESUMEN

La depresión corresponde a un trastorno del humor y del estado de ánimo que se manifiesta a partir de una serie de síntomas que incluyen cambios bruscos del humor, irritabilidad, falta de entusiasmo y una sensación de congoja o angustia, trascendiendo a lo que se considera como normal. Es un trastorno que se ha estudiado a lo largo de los años buscando la causa, descubriendo una serie de teorías que ayudan a entender la causa que lleva a generar estos trastornos. Gracias a esto se han descubierto una serie de Marcadores Bioquímicos como factores de crecimiento, citoquinas, neuropéptidos y hormonas, que se ven alterados a través de los mecanismos que conducen a un cuadro depresivo y se han utilizado para su mismo estudio. A través de la medición de estos biomarcadores y la incorporación de diversos métodos para su medición se han podido estudiar de mejor manera. Para la medición de estos marcadores se utiliza sangre o suero del sujeto, pero actualmente también se está optando por utilizar muestras de saliva o cabello que son de fácil extracción. Dicho esto, el objetivo de este trabajo es recopilar información acerca de marcadores bioquímicos actuales de depresión, con el fin de mostrar cual marcador podría ser el más fiable, fácil de medir y analizar. Para ello se realizó una búsqueda de distintos artículos que han sido reconocidos y publicados en páginas académicas. Finalmente, se concluye que no se ha encontrado el marcador ideal, siendo el más usado el cortisol, no obstante, la detección temprana sigue siendo un desafío pese a los numerosos estudios que buscan establecer un vínculo entre biomarcadores y trastornos depresivos.

Palabras Claves: **Biomarcadores, Depresión, Citoquinas, Neuropéptido Y, Cortisol, Orexina, Leptina.**

5. INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años ha existido un incremento en los casos de depresión tanto a nivel mundial como a nivel nacional, llegando a ser una de las enfermedades más recurrentes tanto en adultos como en adolescentes. Esta afección es considerada como trastorno que se puede expresar a temprana edad, teniendo como constante los casos de estrés, los cuales han ido en aumento de forma concordante a los casos de depresión. Sus causas son diversas siendo el estrés una de ellas. Se considera como el trastorno psiquiátrico más común y la condición más discapacitante en términos de años perdidos por discapacidad.

Entre los síntomas más comunes se encuentra la falta o aumento de apetito, así como el aumento del sueño, o como caso contrario dificultades para conciliar el sueño, entre otros. Todos estos síntomas podrían explicarse por un origen bioquímico, por lo que en circulación podríamos medir sus niveles y por ende asociarlos a un trastorno específico que ayude al diagnóstico y tratamiento de los pacientes y a la causa como tal.

Es por esto la importancia de describir que conduce a la generación de los mecanismos que conllevan a una depresión, así como las distintas moléculas involucradas y como estas pueden ser medidas o cuantificadas usando distintos marcadores tanto neuronales, hormonales o inflamatorios.

El objetivo de este trabajo es recopilar información acerca de los distintos marcadores bioquímicos asociados a depresión a través de la búsqueda de información y descripción de estos marcadores, tanto inflamatorios, hormonales, entre otros. Así como la descripción de los mecanismos por los cuales se produce este trastorno y por lo cual se llega a la medición de diversas moléculas involucradas, con el fin de evidenciar que marcador podría ser el más recomendable desde el punto de vista bioquímico.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Recopilar información sobre marcadores bioquímicos, usados en depresión.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Actualizar información sobre las moléculas involucradas en el mecanismo fisiopatológico que llevan a la depresión.
2. Describir los marcadores utilizados en el diagnóstico de trastornos depresivos.
3. Dar a conocer metodologías para medición de biomarcadores en trastornos depresivos.

7. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Se realizó una Revisión Bibliográfica relacionada con la información disponible acerca de Marcadores Bioquímicos de depresión utilizados en la actualidad.

Para esta búsqueda, se consultó en diversas revistas indexadas, con el fin de asegurar que estos artículos han cumplido con criterios de calidad, los cuales les han permitido ingresar a bases de datos internacionales y/o nacionales.

Las bases de datos consultadas para el desarrollo de esta revisión fueron: PubMed, Scopus, Scielo, Web of Science y Elsevier principalmente, con el propósito de revisar trabajos publicados relacionados con el tema investigado, entre 2011 y 2020, con el uso de palabras claves como depresión, citoquinas, neuropéptido y, ghrelina, orexina, cortisol.

8. MARCO TEÓRICO

8.1 DEPRESIÓN

La depresión es un trastorno del humor y del estado de ánimo que se manifiesta a partir de una serie de síntomas que incluyen cambios bruscos de emociones, irritabilidad, falta de entusiasmo y una sensación de congoja o angustia, trascendiendo a lo que se considera como normal. Con frecuencia tiende a manifestarse en cualquier etapa del ciclo vital y con varios episodios adquiriendo un curso recurrente, con tendencia a la recuperación entre episodios. (1). Aproximadamente un tercio del riesgo de desarrollar depresión es heredado (2) y dos tercios ambiental. El mecanismo por el cual estas experiencias tempranas aumentan el riesgo de depresión incluye no solo procesos psiquiátricos, sino también constructos psicosociales que convierten una experiencia traumática transitoria en una vulnerabilidad a largo plazo. (3)

7.1.1 EPIDEMIOLOGÍA DE DEPRESIÓN MUNDIAL Y NACIONAL

La depresión es una enfermedad frecuente en todo el mundo, y se calcula que afecta a más de 300 millones de personas, ocupando por tanto el tercer lugar de carga de enfermedad, el octavo lugar en los países de ingresos altos y el primer lugar en los países de ingresos bajos y medios, siendo la principal causa de enfermedad en mujeres. (1)

En Chile, según el estudio de Carga de Enfermedad y Carga Atribuible (4), la depresión unipolar es la segunda causa de años de vida perdidos ajustados por discapacidad en la población general chilena y la primera entre las mujeres entre 20 y 44 años.

La Encuesta Nacional de Salud (ENS 2011) (5) con datos que van del 2009 al 2010, estableció que, para personas de 15 años y más, la prevalencia de sintomatología depresiva fue de 17,2%, llegando a un 25,7% entre las mujeres y a un 7,6% en hombres (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de síntomas de depresión por grupos de edad y sexo. Chile 2009-2010 (Tomada de MINSAL, 2009-2011) (5).

Edades	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
15-24	7,6 (4,3-13,1)	21,7 (16,4-28,2)	14,4 (11,8-18,4)
25-44	11,0 (7,4-15,9)	27,9 (22,8-33,5)	19,4 (16,1-23,1)
45-64	7,7 (5,1-11,4)	30,1 (25,2-35,5)	19,2 (16,2-22,8)
+65	4,1 (2,0-8,2)	16,9 (12,0-23,2)	11,2 (8,1-15,1)
Total	8,5 (6,7-10,9)	25,7 (23,0-28,8)	17,2 (15,4-19,2)

Además, según los datos de la Primera Encuesta Nacional de Empleo, Trabajo, Salud y Calidad de Vida de los Trabajadores y Trabajadoras en Chile (6), el 21% de los trabajadores refiere haberse sentido melancólico, triste o deprimido por un período de dos semanas los últimos 12 meses, siendo significativamente mayor el porcentaje en mujeres. Los más afectados son aquellos pertenecientes al grupo etario de 45 a 64 años.

En todas las edades, las características prominentes de los trastornos depresivos incluyen alteraciones en el estado de ánimo, depresión o irritabilidad, cambios concomitantes en el sueño, el interés en las actividades, sentimientos de culpa, pérdida de energía, problemas de concentración, cambios en el apetito, el procesamiento psicomotor e ideación suicida. Los síntomas neurovegetativos de los episodios de depresión tales como la disminución o el

aumento del apetito, acompañados de una considerable pérdida de peso sin la necesidad de hacer dieta, así como el insomnio son síntomas comunes y difíciles de tratar y la patogénesis de este conjunto no ha sido clarificada del todo. (4, 7)

Es por esto por lo que la DSM-5 (Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales) ha diferenciado los síntomas neurovegetativos de los episodios depresivos introduciendo criterios para las características melancólicas, donde existe una prevalencia de insomnio y pérdida de apetito, características atípicas con síndrome vegetativo inverso como hipersomnia e hiperfagia. (7)

8.2 SÍNDROME VEGETATIVO

El síndrome vegetativo corresponde a una condición de vigilia sin conciencia después de una lesión cerebral. Los pacientes que poseen este síndrome pueden abrir los ojos, pero exhiben solo comportamientos reflejos durante el examen clínico y, por lo tanto, se les considera inconscientes de sí mismos y de su entorno. Por otro lado, la hipersomnia corresponde al sueño excesivo durante el día o somnolencia, afectando la vida cotidiana de quien lo posee alterando el sueño y la vigilia. (8)

Es así como este conjunto de síntomas puede servir como acercamiento para descubrir más acerca de este trastorno.

Por otro lado, estudios familiares recientes han revelado que los familiares de primer grado (padres, hijos, hermanos) de sujetos con trastorno depresivo, tienen alrededor de tres veces más probabilidades de enfermar de depresión que la población general. Esta cifra varía en diversos estudios, debido principalmente a diferencias en los criterios diagnósticos, pero en general concuerdan en el mayor riesgo de los familiares directos de enfermar de depresión. (9)

Una de las teorías que se ha encontrado acerca del origen de estos síntomas es por la deficiencia de monoamino oxidasa (MAO).

Los sistemas noradrenérgicos y serotoninérgicos se originan profundamente en el cerebro y se extienden en casi todo el cerebro, lo que sugiere un sistema capaz de modular áreas del sentimiento, pensamiento y comportamiento. Los primeros antidepresivos bloquearon la recaptación de noradrenalina y serotonina por la neurona presináptica. Los efectos inmediatos de esta acción farmacológica son aumentar la disponibilidad de noradrenalina y serotonina en la sinapsis y aumentar la estimulación de la neurona postsináptica. También se descubrió que los inhibidores de la enzima monoamino oxidasa tienen propiedades antidepresivas. Esta enzima cataboliza la noradrenalina y la serotonina en sus respectivas neuronas presinápticas, y podría esperarse que dicha inhibición aumente la disponibilidad de neurotransmisores. Estos descubrimientos son la base de la teoría de esta deficiencia de esta enzima. (9)

Pero no solo existe la teoría anteriormente mencionada, ya que tanto el estrés, el eje hipotalámico-hipofisiario suprarrenal y factores de crecimiento pueden estar influyendo en el proceso que lleva generar este trastorno. (8)

El estrés es percibido por la corteza cerebral y se trasmite hacia el hipotálamo, donde la hormona liberadora de corticotropina (CRH) se libera en los receptores hipofisarios. Este estímulo produce la secreción de corticotropina en la corteza suprarrenal y la liberación de cortisol en la sangre. Los receptores hipotalámicos de cortisol responden disminuyendo la producción de CRH para así mantener la homeostasis. (8)

Las investigaciones sugieren que la perturbación hipotalámica primaria en la depresión puede consistir en un número aumentado de neuronas que contienen un péptido secretado por neuronas llamado factor liberador de corticotropina (más conocido en sus siglas en inglés como CRF). Este factor es transportado a la hipófisis por la circulación hipotálamo-hipofisiaria y es ahí donde estimula a las células productoras de la hormona adenocorticotropina, la que pasa a la circulación periférica y estimula a la corteza suprarrenal para que secrete glucocorticoides, particularmente cortisol. (9)

8.3 BIOMARCADORES

La aplicación de biomarcadores en el desarrollo de fármacos y la toma de decisiones clínicas tiene el potencial de cambiar drásticamente la prestación de asistencia sanitaria. Los biomarcadores podrían tener un profundo impacto en el diagnóstico y tratamiento de los trastornos psiquiátricos, como es el caso del trastorno depresivo mayor (MDD, por sus siglas en inglés), conocido también como depresión clínica, el cual corresponde a un trastorno psiquiátrico grave con una prevalencia de por vida superior al 15%, que es la cuarta causa principal de discapacidad en todo el mundo.

Actualmente el diagnóstico de trastornos psiquiátricos se basa en la evaluación de los síntomas y la realización de una adecuada entrevista clínica. Por esta razón el diagnóstico de un mismo paciente puede variar dependiendo de la experiencia del profesional y su adherencia a los criterios del DSM-5. Además, en algunos casos, pacientes con diferentes trastornos presentan síntomas similares, lo que puede llevar a un error en el diagnóstico que dificulte la instauración del tratamiento más adecuado. Un ejemplo claro de esto serían los pacientes con Trastorno Afectivo Bipolar (TAB) que debutan con un episodio depresivo, lo que retrasa mucho el diagnóstico de su verdadera patología y el inicio del tratamiento más adecuado (10).

En cualquier caso, no es habitual que un biomarcador llegue a ser mejor que el método utilizado para confirmar el diagnóstico de una patología. En el caso de los trastornos psiquiátricos esto se realiza mediante una entrevista clínica. Actualmente es poco probable que un biomarcador llegue a ser mejor en la identificación del MDD que una extensa entrevista clínica realizada por un profesional con amplia experiencia en el campo. Sin embargo, estos biomarcadores, podrían ser de gran utilidad para screening a gran escala, o como identificador del riesgo de desarrollar un MDD (10).

8.3.1 HIPÓTESIS INMUNOINFLAMATORIA EN DEPRESIÓN

Se han explotado varias hipótesis biológicas en la búsqueda de biomarcadores para MDD. La hipótesis inmunoinflamatoria de MDD se basa en el descubrimiento de la comunicación recíproca entre los sistemas inmunitario y nervioso. Se ha visto en varios estudios que los estímulos inflamatorios pueden provocar síntomas depresivos en humanos, y varios datos indican un estado inmunológico alterado en la depresión, así como cambios en la glándula pituitaria los cuales han sido definidos para explicar los episodios de melancolía en depresión y la depresión atípica. (11)

Estudios recientes han identificado fuertes biomarcadores para la patogénesis de MDD, basados en evidencias clínicas y análisis realizados en muestras sanguíneas, basado en evidencia clínica y en análisis de marcadores sanguíneos se observa asociación entre síntomas y estos marcadores asociados a MDD. Existe evidencia acumulada que muestra que tanto leptina, ghrelina y orexina, así como otras hormonas periféricas, como insulina y ciertas neurohormonas secretadas por el hipotálamo, incluido el neuropéptido Y, o algunos factores de crecimiento neurales como el factor neurotrófico derivado del cerebro, (o llamado en sus siglas en inglés BDNF) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), los cuales regulan el sueño, el apetito y la ingesta de alimentos, podrían influenciar en la aparición de los síntomas neurovegetativos de la depresión. (11)

Otras teorías se han centrado en la influencia del cortisol, y la cascada activada por el estrés, que incluiría la modulación de la respuesta inmune e inflamatoria, como factores que explicarían el inicio y la recaída de episodios depresivos. Actualmente se pretende establecer modelos integradores que den cuenta de la interacción de aspectos genéticos, así como de la exposición temprana a eventos perturbadores, como predisposición y reforzamiento de la distorsión cognitiva característica de la depresión. Se propone que las interacciones entre los genes y factores ambientales constituyen factores predictores más consistentes que cada grupo por separado (12, 13).

Recientemente los investigadores han focalizado su interés en los mecanismos y efectos crónicos del uso de antidepresivos, ya que existen hallazgos de su modulación sobre elementos intracelulares tendientes a la resiliencia celular y la neuroplasticidad (13)

Dos vías intracelulares (Figura 1) con efectos neuroplásticos incluyen la proteína neuroprotectora Bcl-2 y el BDNF, moduladas tanto por los antidepresivos como por los estabilizadores del afecto. La vía del BDNF requiere la activación de MAPK (proteínas quinasas activadas por mitógenos), que conducen a un incremento del CREB y, finalmente, de la transcripción de Bcl-2. Una segunda vía envuelve la activación de la adenilciclasa y la PKA (proteína kinasa A), por mediación de receptores ligados con proteínas G, que conduce a la activación del CREB, y el subsecuente aumento en la expresión del BDNF (14).

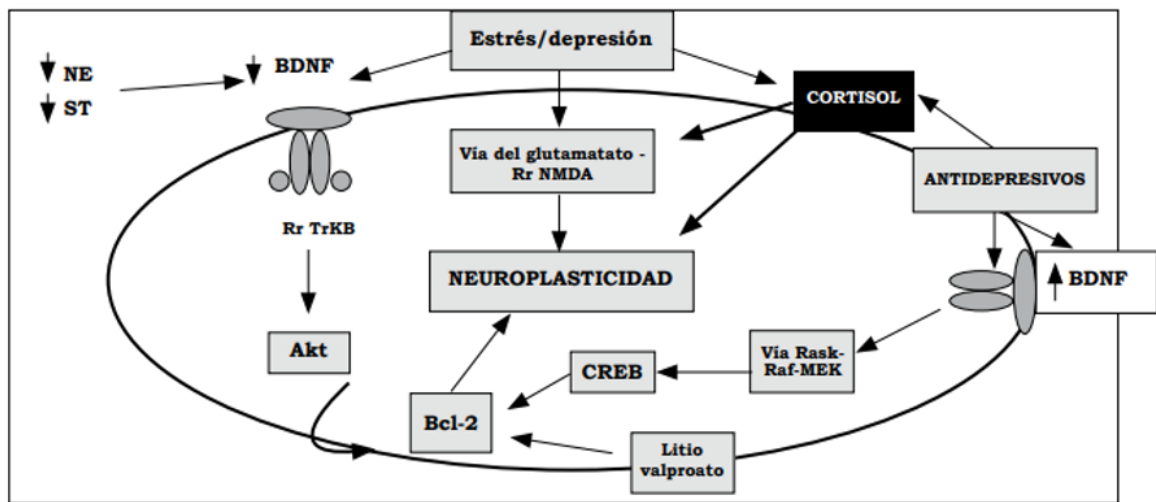


Figura 1. Modelo biológico de la depresión y BDNF (Tomado de Mendoza, 2012) (14)

8.3.2 CITOQUINAS INFLAMATORIAS

En cuanto a las citoquinas inflamatorias, estudios postulan que de acuerdo con su nivel sanguíneo provocarían comportamientos y síntomas asociados al trastorno depresivo como es la ansiedad, que pueden llegar a atenuarse con un tratamiento antidepresivo intensivo. La teoría inflamatoria es otro concepto con una base biológica de la psicopatología depresiva. En pacientes con depresión atípica versus con depresión no atípica, la inflamación parece ser significativa. La inflamación parece ser mayor en aquellos con depresión atípica que tiene un patrón de citoquinas proinflamatorias diferente en comparación con la depresión melancólica. Se han descrito asociaciones entre marcadores inflamatorios y síntomas depresivos individuales como fatiga, disfunción cognitiva y falta de sueño, este último ha asociado a un aumento de la interleuquina 6 (IL-6), así como con la activación del factor nuclear kappa B (NF-kB), un factor de transcripción primario en el inicio de la respuesta inflamatoria. (15)

Numerosos estudios han informado aumentos en las citoquinas proinflamatorias circulantes, interleuquina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), sus receptores solubles y proteínas de fase aguda como la proteína C reactiva (PCR), en pacientes con depresión idiopática mayor. Un par de estudios también ha medido las concentraciones de citoquinas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes deprimidos, y algunos han observado un aumento de las citoquinas en comparación con los controles realizados en los estudios respectivos. En otro estudio se observó concentraciones más altas de IL-1 beta y más baja de IL-6 en LCR y ningún cambio en TNF alfa en sujetos deprimidos en comparación con los controles, y en otro estudio se informó un aumento de las concentraciones de IL-6 en LCR que se correlacionan con puntajes depresivos en sujetos deprimidos que habían intentado suicidarse. Otro estudio no informó cambios en las citoquinas del LCR entre sujetos deprimidos y sanos, pero sí se encontró relaciones entre las citoquinas y los síntomas depresivos tanto antes como después del tratamiento antidepresivo. Además, se han observado niveles elevados del mediador inflamatorio, prostaglandina E2 (PGE2), en la saliva, plasma y LCR de sujetos deprimidos y se correlacionó con la severidad de la depresión (16)

Las citoquinas periféricas actúan accediendo al sistema nervioso central donde aumentan la producción de mediadores inflamatorios locales como la ciclooxigenasa-2 (PGE2), óxido nítrico (NO), citoquinas y quimioquinas por las células endoteliales, los macrófagos perivasculares y microglía. La producción de proteína quimiotáctica monocítica 1 (MCP-1) recluta células inmunes periféricas en el cerebro que producen aún más citoquinas y mediadores inflamatorios. Las citoquinas inflamatorias están asociadas con un aumento del estrés oxidativo y la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno reactivo (ROS y RNS). El aumento de ROS y RNS contribuye a la oxidación de tetrahidrobiopterina (BH4), un cofactor requerido para la síntesis de monoaminas (Figura 2).

Además de mostrar un aumento de los marcadores inflamatorios en reposo, se ha informado que los sujetos deprimidos muestran un aumento de las respuestas inflamatorias al estrés. Por ejemplo, en sujetos con depresión mayor y antecedentes de estrés temprano obtuvieron una producción de IL-6 circulante exagerada y una mayor unión al ADN de NF- κ B en células mononucleares de sangre periférica en comparación a sujetos sin depresión. (17)

No todos los estudios han encontrado una asociación entre los niveles elevados de citoquinas y la depresión, lo que no es sorprendente dada la naturaleza heterogénea de MDD. Como ejemplos, un estudio incluso encontró niveles más bajos de IL-6 en LCR de pacientes geriátricos deprimidos, otro estudio de adultos sanos no observó relación entre la escala de depresión del cuestionario de salud global y las citoquinas y el síndrome de somatización puede tener una firma inmunológica diferente a la MDD. También es posible que haya una disfunción inmune menos pronunciada en el trastorno depresivo persistente en comparación con un episodio de MDD grave (17).

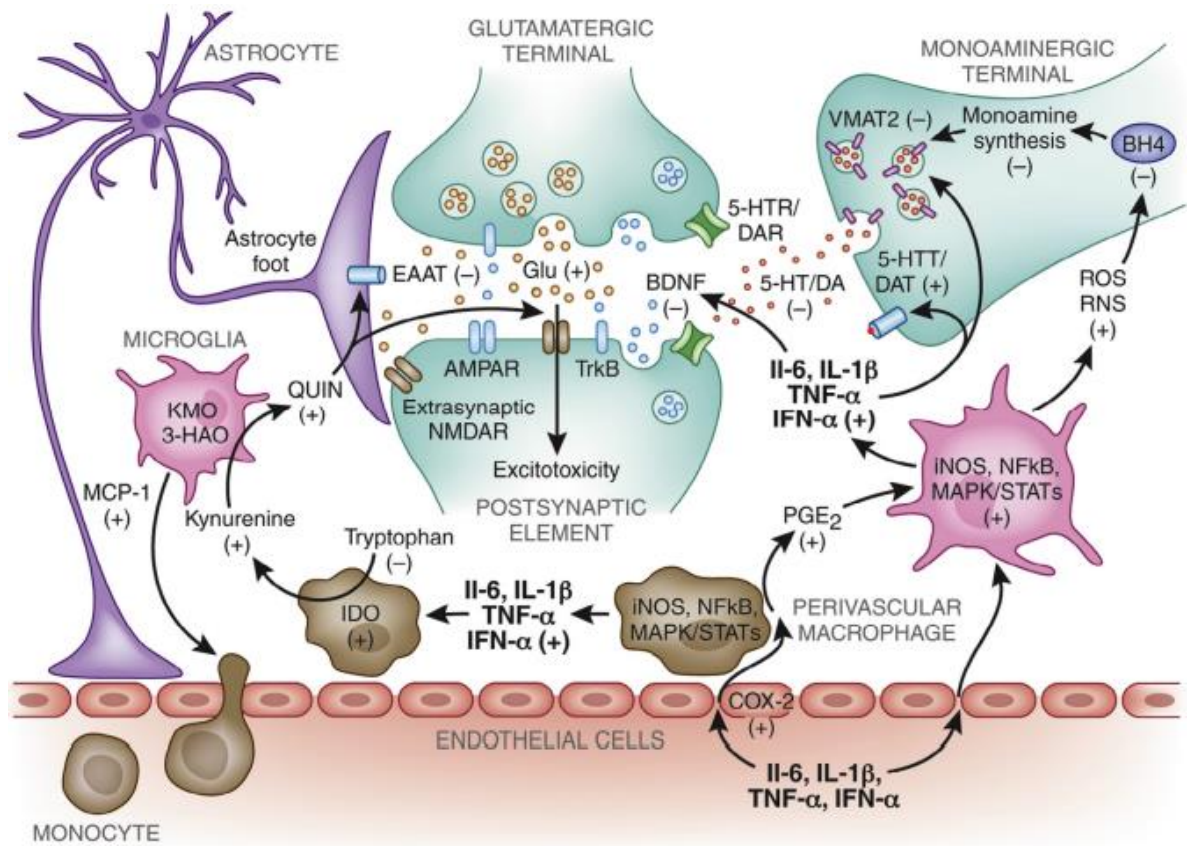


Figura 2. Posibles mecanismos de los efectos inflamatorios de las citoquinas en los sistemas de neurotransmisores BDNF, monoamina, glutamato y cerebro (Tomado de Felger, 2013) (17).

8.3.3 FACTORES DE CRECIMIENTO

Se ha descrito factores de crecimiento que estarían involucrados en los mecanismos de depresión (18), donde se ven influenciados los hábitos alimenticios, pero aún esta información es controversial.

Múltiples metaanálisis han identificado que tanto BDNF y VEGF estarían involucrados en la neuro plasticidad, angiogénesis y neurogénesis en suero de pacientes con depresión. Además, existen variantes genéticas de BDNF que se han asociado a hiperfagia y obesidad severa. (19)

Estudios han comparado los niveles de BDNF en suero de pacientes y han llegado a la conclusión que en estos pacientes que sufren de desórdenes afectivos, melancolía y depresión tanto típica como atípica, existe un bajo nivel de BDNF, pero no puede ser atribuido a los síntomas individuales de depresión. (20)

El VEGF es un precursor de proteínas y neuropéptidos secretados que está fuertemente regulado por el BDNF y la actividad neuronal del sistema nervioso central. La expresión del VEGF en el hipocampo disminuye en estados de depresión y aumenta con el ejercicio y con tratamiento antidepresivo. (21)

La ketamina, un antagonista del receptor del N-metil-D aspartato glutamatérgico no competitivo (NMDA), ha surgido recientemente como un nuevo y prometedor antidepresivo. En estudios clínicos, una sola infusión intravenosa subanestésica de ketamina mejora significativamente los síntomas de depresión en pacientes con MDD. Estudios preclínicos demuestran que la ketamina ejerce sus efectos antidepresivos al regular la plasticidad sináptica de la activación y señalización del receptor de rapamicina. (22)

Investigaciones realizadas en animales han demostrado que el BDNF se encuentra disminuido en las estructuras del sistema límbico tras la exposición crónica prolongada a estresores externos. Por otra parte, se han encontrado niveles disminuidos en plasma en pacientes diagnosticados de MDD, con alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de los primeros episodios depresivos (23).

Por otra parte, se ha visto que los niveles de BDNF aumentan tras el tratamiento antidepresivo. Así mismo, estos resultados se han visto solo en aquellos pacientes que respondían favorablemente al tratamiento, mientras que aquellos pacientes resistentes a los antidepresivos continuaban con niveles disminuidos de BDNF en plasma. Recientemente se ha demostrado que la falta de aumento de los niveles de BDNF de 7 a 14 días tras el inicio del tratamiento antidepresivo era un buen predictor de resistencia al tratamiento y no remisión, con una especificidad muy elevada, sobre todo si se correlacionaba con una falta de mejoría en la Escala de Hamilton para la Depresión. Posteriormente se demostró que el aumento en los niveles de BDNF tras siete días de tratamiento, asociado a una mejoría en los resultados de la escala de Hamilton era un buen predictor, con alta especificidad, de buena respuesta al tratamiento y remisión en el futuro (24).

En cuanto al VEGF, la mayoría de los estudios han encontrado niveles aumentados de VEGF en el plasma de pacientes diagnosticados de MDD. Además, en algunos de esos estudios se vio también un aumento en la expresión del ARNm de VEGF en sangre. Por otra parte, algunos estudios han encontrado niveles significativamente más elevados de VEGF en pacientes resistentes al tratamiento farmacológico en comparación a aquellos pacientes que si respondían a los antidepresivos. A pesar de todo, en algunos estudios se obtuvieron resultados muy dispares (25).

8.3.4 NEUROPEPTIDOS HIPOTALÁMICOS

8.3.4.1 NEUROPEPTIDO “Y”

Existen marcadores asociados a actividad hormonal, teniendo participación en el hipotálamo. Un ejemplo es el neuropéptido Y (NPY) que corresponde a un neuropéptido perteneciente a la familia polipéptido pancreática y se encuentra distribuido en el cerebro (26). Se ha encontrado que la relación entre este neuropéptido y la depresión radica en efectos psicológicos relacionados con ansiedad, estrés, procesamiento de la memoria, ritmo circadiano, entre otros (27). Además, se ha descrito que el neuropéptido Y, se libera en conjunto con norepinefrina por las fibras nerviosas simpáticas, teniendo un efecto modulador en la actividad de las células inmunes (28).

El NPY es un factor que se vincula potencialmente con la obesidad inducida por la dieta con las alteraciones del estado de ánimo. Por un lado, NPY es un regulador del apetito y la ingesta de alimentos, y, por tanto, una dieta obesogénica afecta el sistema de NPY en varias áreas del cerebro. Por otro lado, NPY está involucrado en la regulación del comportamiento afectivo emocional y la resistencia al estrés, por lo tanto, la señalización alterada de NPY en respuesta a una dieta obesogénica puede contribuir a alteraciones neuropsiquiátricas observadas por algunos estudios en sujetos obesos (29). La señalización de NPY no solo puede ser alterada por cambios en la actividad de los receptores NPY, sino que también por cambios en la expresión, liberación y degradación del péptido.

En un conjunto de experimentos se muestra que la administración de NPY intranasal antes de un factor estresante atenuó significativamente los comportamientos de PTSD y depresión siete días después del estado de estrés. (30)

Experimentar o presenciar eventos traumáticos puede conducir a un PTSD, lo que sugiere relevancia de los sistemas biológicos que se reclutan después de la exposición al trauma y al estrés. Los receptores NPY en áreas límbicas y tronco encefálico juegan un papel importante

en la regulación del estrés, ansiedad, miedo, el aprendizaje y la memoria, al igual que la regulación de enfermedades cardiovasculares, teniendo respuestas fisiológicas y de comportamiento a través de distintas áreas del cerebro que median estos efectos (Figura 3).

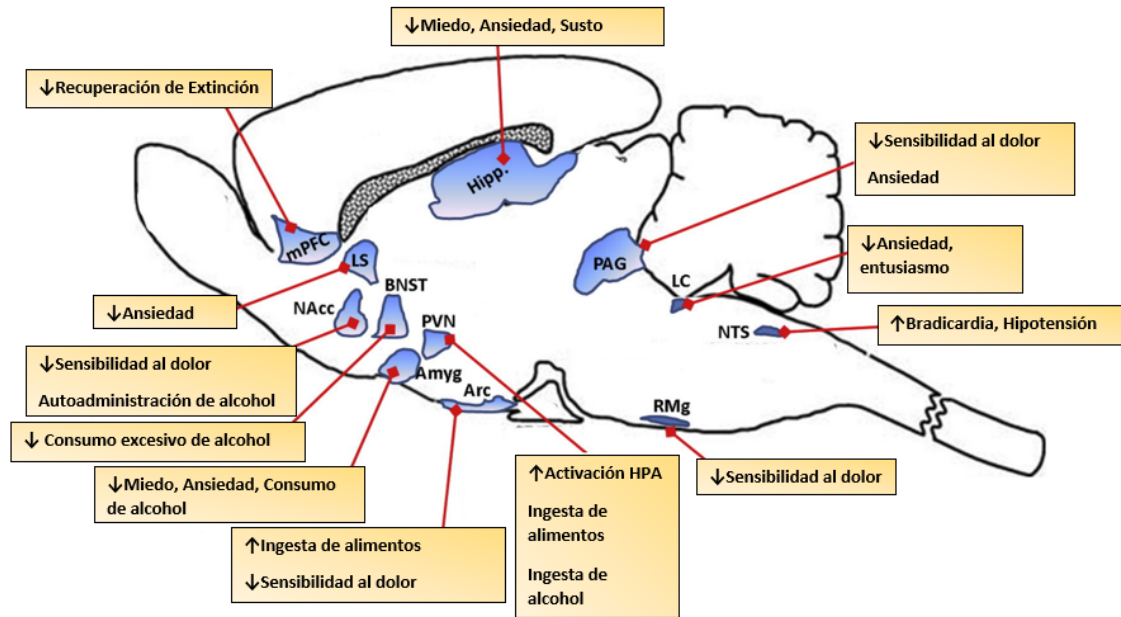


Figura 3. Potenciales sitios para la regulación de respuestas fisiológicas y de comportamiento relevantes para condiciones comórbidas por NPY (Tomada y adaptada de Schmeltzer, 2016) (31).

Otros estudios mostraron que los niveles plasmáticos de NPY aumentaron bajo estrés, y que niveles más altos de NPY se correlacionan con un mejor comportamiento conductual bajo estrés, por ejemplo, cuando se examinaron soldados sanos pertenecientes a la milicia que se encontraban bajo entrenamiento militar, se descubrió que los niveles de NPY eran más altos en los soldados que habían sido sometidos a interrogatorio lo que correspondería a una situación de estrés (32).

La variación en la expresión del gen NPY también se ha relacionado con el rasgo de ansiedad y con las respuestas neuronales frente a una amenaza medida a través de imágenes de resonancia magnética funcional en individuos sanos. Personas con baja expresión de NPY mostraron una mayor activación de rostros temerosos dentro de la amígdala y el hipocampo, en comparación con las personas con una alta expresión de NPY. En otro experimento, se observó una baja expresión de NPY y se asoció con mayores niveles de preocupación anticipada y miedo a la incertidumbre. Además, se encontró que el genotipo NPY, en cuanto

a su interacción, en conjunto con una historia de estrés infantil, se asoció con una mayor activación de la amígdala en el genotipo NPY de baja expresión, pero no en el genotipo de alta expresión. Finalmente, una baja expresión de genotipos NPY se han asociado a las emociones negativas y estos genotipos están asociados de forma común en pacientes con MDD en comparación con personas sanas no deprimidas (32).

8.3.4.2 NESFATINA 1

La nesfatina 1 es un péptido secretado por el tejido periférico, central y el sistema nervioso periférico y está involucrada en la regulación de la energía en la homeostasis que regula la ingesta de comida y agua (33).

En datos recientes se ha definido que el fragmento N-terminal de la proteína nucleobinding2 (NUCB2) de nesfatina, sería un potencial biomarcador de la comida ingerida y de la regulación del sueño en MDD. Al estar involucrado con el apetito y en cambios metabólicos producidos en desórdenes alimenticios, podría jugar un rol importante en la regulación de los estados afectivos y reacciones ante el estrés (34).

En estudios posteriores también se identificó la expresión de NUCB2/ nesfatina 1 en la periferia, como en el tejido adiposo, las células beta pancreáticas endocrinas, los testículos y en células endocrinas del estómago, siendo esta una fuente importante donde se almacena junto con ghrelina. Estos hallazgos se confirmaron posteriormente en humanos. A pesar de que este hallazgo sugirió una implicación de la nesfatina-1 periférica en la regulación de la ingesta de alimentos, se observó un efecto anorexigénico que resultó más fácil después de la inyección central de esta, mientras que la aplicación periférica no tuvo efecto sobre la ingesta de alimentos o requirió de dosis muy altas, aunque se demostró que la nesfatina-1 cruza la barrera hematoencefálica. Más tarde, los estudios identificaron otros efectos de la nesfatina-

1 periférica como un papel en la homeostasis de la glucosa, una acción antiinflamatoria y un aumento de la presión arterial que apunta hacia efectos más pleiotrópicos del péptido (35).

En el cerebro, la liberación de péptidos reguladores de la ingesta de alimentos a menudo se ve afectada por situaciones aversivas, lo que indica una participación de estos péptidos en la respuesta al estrés (36). La acción inhibitoria de la ingesta de alimentos de nesfatina-1 está mediada por la señalización del receptor 2 del factor de liberación de corticotropina (CRF). Además, se mostró que la inyección intravascular de nesfatina-1 activa neuronas CRF positivas, aumentando posteriormente los niveles circulantes de hormona adenocorticotropina (ACTH) y corticosterona. Por último, varios factores estresantes activan la señalización cerebral de NUCB2/nesfatina-1 y también aumentan los niveles circulantes de esto. Estos incluyen factores estresantes psicológicos como restricción de agua, físicos como cirugía abdominal e inmunológicos (37).

Dado que existe una alta comorbilidad entre la ansiedad y los trastornos depresivos, se podría especular que NUCB2/nesfatina-1 también desempeña un papel en el desarrollo de síntomas depresivos. Un estudio en el cual se observó el comportamiento en ratas, la administración de nesfatina-1 aumentó la inmovilidad de forma dependiente en la prueba de natación forzada, apuntando hacia un comportamiento similar a la desesperación. Además, los niveles plasmáticos de IL-6 y PCR aumentaron de forma dependiente de la dosis después de la administración de nesfatina-1, por lo que induce a un comportamiento similar a lo que ocurre en depresión referido a la nesfatina-1. Por lo tanto, la activación de las cascadas de señalización inflamatoria inmune estaría involucrado en la patogénesis de la depresión (37).

Los estados depresivos a menudo se acompañan de trastornos del sueño que pueden ir acompañados de un sueño anormal tipo REM. En estudios con ratas se observó que la expresión de la proteína NUCB2/nesfatina-1 se redujo significativamente en la zona dorsolateral del hipotálamo en respuesta a la privación de sueño, zona que presenta grandes cantidades de neuronas positivas para NUCB2/nesfatina-1 y está involucrado en el control de la ingesta de alimentos, la regulación de los estados sueño-vigilia y también en el desarrollo de síntomas depresivos (37).

8.3.5 LEPTINA

La leptina es una hormona proteica anorexigénica, secretada principalmente por el tejido adiposo. A través de su receptor hipotalámico, la leptina parece influir en varias funciones biológicas involucradas en la fisiopatología de la obesidad. Participa en la disminución del peso corporal al suprimir el apetito y aumentar el gasto de energía. Además, la leptina desde el torrente sanguíneo puede ser transportada al líquido cefalorraquídeo y luego al cerebro a través de la barrera hematoencefálica, a través del receptor de sus diferentes formas, ya que posee diversos polimorfismos (38).

Al cruzar la barrera hematoencefálica se une a un receptor de leptina específico LEPR que se distribuye en varias regiones cerebrales específicas, incluidas la corteza, el tálamo, mesencéfalo y otras regiones del sistema nervioso central (39).

Es por esto por lo que se plantea que existe un efecto potencial de la leptina directamente en el cerebro a través de sus receptores los cuales se encuentran distribuidos en el hipotálamo, siendo una adipocina clave que media la comunicación entre el tejido graso y el cerebro para regular la ingesta de alimentos y mantener el equilibrio energético. Pero no solo actúa a nivel del hipotálamo, también ejerce funciones participando de manera crítica en procesos de aprendizaje y memoria (38).

El LEPR (receptor de leptina) pertenece a la familia de receptores de citoquinas tipo 1, cuya estructura está compuesta por un haz de 4 hélices. Se producen múltiples isoformas de LEPR, de las cuales cinco están unidas a la membrana y una es secretada luego de la transcripción (39, 40).

Las mutaciones de este gen son extremadamente raras en humanos y animales. Una única sustitución de nucleótidos (G a A) en el exón 6 conduce a una deficiencia en el dominio intracelular y transmembrana del receptor (39).

Existen estudios que además plantean que la leptina no solo deriva del tejido adiposo, sino también del cerebro. Por lo tanto, se cree que la leptina tiene una acción directa en el desarrollo neurológico a través de sus receptores ampliamente distribuidos en diferentes

regiones del cerebro participando además en la regulación del estado de ánimo y las emociones (38).

La leptina es un regulador establecido y crítico de la alimentación, comportamiento y gasto de energía, pero la distribución cerebral de LEPR también sugiere que puede estar involucrada en otras funciones neuronales. Varios estudios sugieren que la leptina tiene efectos antidepresivos y que podría ser un objetivo terapéutico potencial para la depresión. La deficiencia de LEPR conduce a alteraciones de la memoria y cognitivas que se acompañan de alteraciones en la plasticidad sináptica del hipocampo. Se ha informado que la administración aguda de leptina tiene efectos antidepresivos y ansiolíticos en ratones. Además, estudios clínicos han demostrado que la expresión de ARNm y proteína de leptina se asocian de forma positiva con la gravedad del estado de depresión (41).

Las alteraciones duraderas en la morfología celular, que afectan la función celular y la plasticidad, pueden contribuir a la depresión y otros trastornos del estado de ánimo. Los pacientes con MDD tienen una densidad neuronal reducida en el PFC, números de sinapsis reducidos y complejidad dendrítica reducida, en comparación con personas no afectadas. Estos cambios en la morfología celular son consistentes con el hallazgo de atrofia estructural en el hipocampo de pacientes deprimidos (42).

Por otro lado, se ha reportado que la leptina es capaz de modular la eficacia sináptica de la transmisión del hipocampo, incluida la potenciación a largo plazo y la depresión a largo plazo (PLP y DLP respectivamente). Las diferentes dosis de leptina y otras hormonas circulantes afectadas por la misma generan efectos en PLP y DLP, pero los estudios farmacológicos han investigado como la leptina afecta la función sináptica del hipocampo y han mostrado resultados inconsistentes. La administración de una dosis intermedia de leptina directamente en el hipocampo estimula la PLP, generando efectos en el aprendizaje y la memoria que son dependientes del hipocampo, sin embargo, las dosis más altas y más bajas de leptina inhiben la PLP (41).

Las dosis de leptina aplicadas a estudios se realizan generalmente se utiliza para estudios en obesos, donde la pérdida de peso se asocia a un aumento de la dosis de leptina, ya que generan una señal suficiente que induce a la pérdida de peso en individuos con adiposidad elevada, pero si se administra en largos períodos puede generar efectos adversos, por lo que se mantiene en una dosis regulada (43).

8.3.6 GHRELINA

La ghrelina por su parte es una hormona peptídica secretada en el estómago que actúa a nivel del sistema nervioso central para regular la ingesta de alimentos al actuar sobre las neuronas en el hipotálamo (44) y tiene un efecto antidepresivo débil. Ha sido reconocida como un estimulante endógeno en la sensación de hambre, siendo uno de los más potentes (45).

Se ha demostrado que la ghrelina modula la señalización mesolímbica dopaminérgica (vía por la que se transmite la dopamina), extendiendo el papel de la ghrelina más allá de la regulación del control homeostático de la ingesta de alimentos (46).

En la obesidad, la secreción de ghrelina se encuentra inhibida, pero se revierte después de la disminución de peso. Pero cuando esta molécula se administra de manera directa en el sistema nervioso central, las neuronas expresan en forma muy temprana factores de transcripción, en especial en las zonas encargadas de regular el apetito (47).

Como se mencionó anteriormente, la ghrelina es una hormona digestiva que se descubrió tenía propiedades orexigénicas. Por esta razón, ha sido objeto de investigación de una serie de estudios centrados en los mecanismos fisiopatológicos del apetito. Sumado a lo anterior, se ha probado como un objetivo terapéutico para una serie de patologías, en primer lugar, para la obesidad. Además, algunos autores han sugerido la implicancia de la ghrelina en el sueño y la memoria, es por esto por lo que está involucrada en una serie de enfermedades neurológicas. Por ejemplo, en la enfermedad de Parkinson, estudios han demostrado que la ghrelina tiene un papel protector en las neuronas dopaminérgicas a través de la inhibición de la activación de la microglía (48).

Otro ejemplo es la enfermedad de Alzheimer, lo cual se ha probado en ratones y se ha demostrado una mejora en los trastornos de la memoria después de administrar ghrelina, lo que indicaría que la ghrelina posee un papel protector contra la toxicidad de las placas beta-amiloides que son afectadas en esta enfermedad (49).

El apetito, el sueño y la memoria son tres temas de interés en el campo de investigación en psiquiatría y más específicamente en trastornos del estado de ánimo. De hecho, son tres síntomas que son frecuentes y fácilmente identificables durante episodios típicos (50).

Recientemente se identificaron inmunoglobulinas (Igs) reactivas a ghrelina en humanos y roedores. Se descubrió que la IgG reactiva de la ghrelina protege a esta de la degradación y puede mejorar el efecto orexigénico, dependiendo de su afinidad por la ghrelina que se vio aumentada en humanos y ratones obesos. Por lo tanto, la IgG reactiva a la ghrelina parece desempeñar un papel como modulador de señalización de esta y por esto también podría generar efectos sobre la ansiedad, la depresión y la respuesta al estrés. Debido a que la producción de IgG está regulada por múltiples factores, incluidos antígenos específicos y activadores no específicos de la respuesta humoral del sistema inmune, los niveles séricos de IgG reactiva con ghrelina pueden reflejar la variabilidad individual en la señalización de esta hormona (51).

Sin embargo, debido a los múltiples mensajeros químicos implicados en la regulación del estado de ánimo, la emoción y el estrés, así como las manifestaciones subclínicas típicas de la alteración del estado del ánimo y las emociones, la posibilidad de revelar un vínculo significativo entre los niveles de Ig reactiva de ghrelina y los síntomas de ansiedad y depresión (51).

8.3.7 OREXINAS

Las orexinas son neuropéptidos que se originan en el hipotálamo, están encargadas de regular diversas funciones fisiológicas, como la alimentación, el estado de sueño y de vigilia, el estrés y la homeostasis endocrina. Existen dos isoformas; orexina A y orexina B, también conocidas como hipocretina 1 y 2 (OX1R y OX2R respectivamente). Estas dos isoformas surgen de la proteína precursora de pre-pro-orexina (52).

Se expresan específicamente en el hipotálamo lateral, dorsal y perifornical. Se cree que estas regiones además de contener a estos neuropéptidos contienen a sus receptores y serían las que participan en los comportamientos alimenticios. También se ha indicado que los neuropéptidos y receptores de orexina aparecen en la coordinación de la actividad cardiovascular y simpática a través de proyecciones en el núcleo paraventricular, núcleo del tracto solitario (cuya ubicación es la porción caudal del bulbo raquídeo) y la médula ventrolateral rostral (52).

Estas neuronas orexigénicas producen señales estimulantes e inhibitoras y las transmiten al eje neural compuesto por la corteza, el hipotálamo, el tronco encefálico, la médula espinal y las neuronas ganglionares presináptica (45).

Se ha demostrado que pacientes depresivos exhiben un nivel reducido de orexina en LCR. Esta hormona es sintetizada de forma restringida en el hipotálamo, pero modula ampliamente la actividad cerebral completa y regula una variedad de comportamientos complejos, como la alimentación, el sueño, el estado de vigilia y las emociones. Además, la ausencia de orexina produce narcolepsia-cataplexia, una somnolencia diurna excesiva acompañada de una pérdida repentina de tono muscular a menudo desencadenada por emociones fuertes. Los pacientes con narcoplesia-cataplexia también manifiestan síntomas depresivos moderados a severos. Esto indica que la orexina tiene un papel emergente del sistema central orexigénico en la fisiopatología de la depresión y la prevención de la depresión (53).

La orexina contiene terminales nerviosas y receptores bien caracterizados en los centros que controlan la sensibilidad y las emociones, incluido el núcleo central de la amígdala. Esta tiene roles en la ansiedad particularmente en respuesta a estímulos que evocan miedo o

amenaza. Estas neuronas expresan OX1R y OX2R, donde tanto la orexina A como la B despolarizan las neuronas en el núcleo central medio de las neuronas a través de OX2R, mientras que neuronas que se encuentran en la estría terminal son despolarizadas por OX1R (53).

La administración central de orexina-A y en algunos casos de orexina-B, generan un comportamiento similar a la ansiedad. Estos efectos fueron observados y recapitulados por infusiones directas de orexina en regiones cerebrales sensibles al estrés que aumentaron el comportamiento relacionado con el estrés observado en estudios con ratones a través de pruebas de laberintos y de luz y oscuridad (53).

8.3.8 INSULINA

La insulina es una hormona endocrina secretada por las células beta pancreáticas que posee diversos mecanismos de regulación que son activados por la presencia de glucosa. Los niveles de esta hormona se ven alterados en enfermedades como la diabetes tipo 2 y esta a su vez está relacionada con la depresión (54).

Una interpretación del vínculo entre la depresión y la diabetes tipo 2 es que la carga psicológica de la vida con un trastorno crónico predispone a los pacientes a la depresión, en pacientes con diabetes tipo 2 se asocia con malos comportamientos de autocuidado. Para respaldar esta interpretación, el riesgo de depresión parece ser mayor en personas con diagnóstico de diabetes tipo 2 que en personas con metabolismo de la glucosa alterado o diabetes no diagnosticada. También se podría explicar por la presencia de factores ambientales de la depresión que coinciden con diabetes, además de estilos de vida similares como la privación socioeconómica, la adversidad social, el tabaquismo y la reducción de actividad física (55).

Una asociación positiva entre la depresión y la resistencia a la insulina aumentaría la posibilidad de un vínculo biológico entre la depresión y la diabetes tipo 2. Un metaanálisis de estudios que investigaron el vínculo entre la depresión y la resistencia a la insulina informó una asociación transversal pequeña pero estadísticamente significativa, este vínculo se atenuó en análisis ajustados por el peso corporal y otros factores. Los estudios utilizaron estimaciones de la resistencia a la insulina, como la evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina (HOMA-IR). Otro estudio informó que la depresión se asoció con valores altos de HOMA-IR y diabetes incidente en mujeres de mediana edad y los síntomas vegetativos de la depresión tales como fatiga, trastornos del sueño y cambios del apetito, se asociaron con una resistencia a la insulina que empeora con el tiempo (54).

Existe el llamado factor de crecimiento insulínico tipo 1 o IGF-1, el cual es un péptido producido principalmente en el hígado, pero también se expresa en el cerebro. Este péptido parece expresarse en mayor abundancia durante el crecimiento, disminuyendo sus concentraciones al llegar a una edad adulta. Parece estar implicado en la señalización interneuronal, neuroprotección, actúa como factor neurotrófico y en estados inflamatorios (25).

La mayoría de los estudios parecen describir una elevación de los niveles de IGF-1 en pacientes con MDD. Sin embargo, los resultados son muy dispares, y no son constantes en hombres y mujeres, lo cual podría deberse a las hormonas sexuales. Además, algunos de los estudios demostraron una disminución en los niveles de IGF-1 tras el tratamiento con amitriptilina y paroxetina, y que la sustitución de este tratamiento por placebo volvía a aumentar los niveles de IGF-1 (25).

8.3.9 CORTISOL

Es una hormona esteroidea o glucocorticoide producida por las glándulas suprarrenales, situadas encima de los riñones (Figura 4), que genera efectos en prácticamente todos los órganos y tejidos del cuerpo, desempeñando un papel importante para responder frente al estrés, combatir infecciones, regular el nivel de azúcar en la sangre, mantener la presión arterial y regular el metabolismo través de la utilización de los alimentos consumidos y la energía (56).



Figura 4. Anatomía de la glándula suprarrenal (Tomado de Obregón, 2019) (56).

Se define como marcador ya que su cuantificación se utiliza para el diagnóstico de trastornos de las glándulas suprarrenales, donde se incluye el síndrome de Cushing, que hace que el cuerpo produzca gran cantidad de cortisol, y la enfermedad de Addison, que genera un efecto contrario (56).

Se cree que el cortisol juega un papel importante en la psicopatología, en particular en los trastornos del estado de ánimo y la ansiedad. Se ha descubierto que las personas con depresión tardan más en volver a los niveles basales de cortisol en respuesta a un estresante psicológico en comparación con los controles sin depresión. Además, los pacientes con depresión actual y remitida parecen tener una mayor respuesta al despertar del cortisol. Un aumento de la reactividad del eje HPA en pacientes con depresión puede ser causado por una

resistencia relativa al cortisol, como lo demuestra una gran respuesta en pacientes con depresión (57).

En pacientes con trastorno bipolar se ha identificado que las personas con edad avanzada poseen un CHC aumentado. Esto indica que una actividad alterada del eje HPA en los trastornos del estado de ánimo puede dar lugar a un aumento de los niveles acumulados de cortisol a largo plazo (58).

También se cree que el cortisol desempeña un papel en los trastornos de ansiedad. En una pequeña muestra de pacientes con trastorno de ansiedad generalizada (TAG), se ha informado una disminución del CHC (58).

Se une a dos subtipos de receptores en todo el cerebro, ambos prominentes en el hipocampo y la corteza prefrontal. El receptor de mineralocorticoides tiene una alta afinidad por el cortisol y, por lo tanto, los receptores están casi completamente ocupados en condiciones con niveles basales de secreción de glucocorticoides. El otro receptor que es de glucocorticoides tiene baja afinidad por el cortisol. Por lo tanto, en condiciones normales, este receptor está moderadamente ocupado y se activa por completo a concentraciones más altas, como bajo estrés o en el peak del ritmo circadiano de la secreción de cortisol. Debido a su activación a concentraciones más altas, el receptor de glucocorticoides parece tener un papel crucial en la regulación de los niveles de glucocorticoides en circunstancias estresantes a través de la retroalimentación negativa sobre el eje HPA que inhibe la producción y secreción de CRH y ACTH. Además, el funcionamiento anormal del receptor de glucocorticoides en el nivel límbico-hipocampal que resulta de la inhibición de la retroalimentación negativa deteriorada y una mayor liberación de CRH, se propone como un mecanismo para la hiperactividad del eje HPA en la depresión y está involucrado en su causa (59).

Como se ha podido observar, existen diferentes marcadores que nos podrían permitir evaluar el estado del paciente que sufre de trastorno depresivo, no sólo aquellos que son más conocidos y que están involucrados con el estado de ánimo y el estilo de vida de la persona.

8.4 MEDICIÓN DE BIOMARCADORES PARA EVALUAR TRASTORNOS DEPRESIVOS

8.4.1 TIPO DE MUESTRA

Para elegir una muestra, es fundamental que el método de extracción no sea invasivo y produzca la menor perturbación posible en el individuo. La saliva representa una matriz de gran utilidad en determinaciones endocrinológicas, ya que, por ejemplo, los esteroides en saliva no son metabolizados a compuestos más polares, como ocurre con esteroides en orina. Además, es importante considerar que es más simple de transportar y almacenar, la estabilidad de las hormonas en saliva a temperatura ambiente, la posibilidad de realizar cierto número de ciclos de congelado y descongelado y el accesible coste que tienen los materiales utilizados para su recolección. A su vez, la toma de muestra no supone dolor para el individuo (60).

El cabello también ha sido reconocido recientemente como biomaterial, ya que tiende a acumular esteroides de semana a meses. Los niveles de esteroides medidos en el cabello humano han sido correlacionados positivamente con los niveles medidos en suero. Los corticoesteroides se incorporan en el cabello durante la fase de crecimiento del folículo piloso, y por lo tanto los valores de esteroides en el cabello reflejan la actividad media del eje HHA (60).

Con respecto a la sangre, es el tipo de muestra predominante para cuantificar niveles de biomarcadores que actúan a nivel sistémico, como hormonas y citoquinas. Las hormonas son vertidas al torrente sanguíneo y son transportadas asociadas a proteínas. En comparación con la saliva, presenta desventajas en el muestreo ya que es más complejo cuando se trata de pacientes ancianos, pediátricos, obesos o con trastorno mental severo. A su vez, puede tener una mayor cantidad de interferentes. Sumado a lo anterior, los costes asociados con el equipo de procesamiento de muestras y el personal capacitado necesarios para la extracción, además

de su transporte y conservación, hacen que este enfoque sea un poco más complejo que otros (60).

8.4.2 MÉTODOS DE MEDICIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS A TRASTORNOS DEPRESIVOS

8.4.2.1 MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

Los métodos inmunológicos se basan en la formación específica de complejos antígeno-anticuerpo. En los últimos años, el método inmunoenzimático ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) adquirió mayor popularidad. Las principales razones de este creciente interés son su facilidad de uso y seguridad, ya que marcas y moléculas radiactivas son restrictivas en términos de manipulación, almacenamiento y eliminación. Por otra parte, este tipo de metodología permite la identificación rápida y fiable de marcadores en concentraciones muy bajas a partir de muestras biológicas complejas. La principal desventaja asociada a esta metodología es que no siempre posee la especificidad requerida para distinguir entre el marcador bioquímico de interés y sus derivados metabólicos (61).

8.4.2.2 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Las técnicas analíticas de separación como HPLC por sí sola o combinada con espectrometría de masas, han sido ampliamente utilizadas para la cuantificación de principalmente hormonas esteroideas. Su alta especificidad analítica, la posibilidad de determinar más de una molécula en la misma muestra, la posibilidad de obtener información cualitativa y cuantitativa y su flexibilidad se constituyen como sus principales ventajas. Como desventaja se presenta el coste del equipamiento y de su mantenimiento. La sensibilidad y los límites de detección vendrán dados por las características técnicas del equipo y por la particularidad de la molécula a analizar, así como también la matriz en la que se encuentre (62).

8.4.3 MEDICIÓN DE CITOQUINAS INFLAMATORIAS

Se han realizado estudios donde se ha medido IL-6. Los sujetos que se analizaron se encontraban entre los 18 y 64 años, a través de un consentimiento informado voluntario (63, 64). El análisis que se les realizó para medir los niveles de IL-6 en plasma fue ELISA de alta sensibilidad disponible de R&D Systems, realizando evaluaciones de calidad. Además, para poder determinar los niveles de IL-6 se tomó la edad y se realizó una operación logarítmica. Lo que se obtuvo en estudios anteriores es que los sujetos con MDD exhibían una respuesta de IL-6 exagerada al estrés psicosocial agudo. Sin embargo, no se ha establecido el papel del entorno de la vida temprana en la respuesta inflamatoria relacionada con el estrés. además, se demostró que los hombres con MDD que informaron maltrato infantil tenían una respuesta de IL-6 mucho mayor a quienes no sufrían de maltrato infantil. Este estudio buscó aclarar el

papel del estrés de la vida temprana en la mediación de la respuesta de IL-6 y desentrañar los efectos del MDD y el maltrato en la vida temprana mediante la evaluación de la respuesta inflamatoria aguda en adultos sin depresión. Los resultados de este pequeño estudio piloto indican que el entorno temprano adverso, medido aquí por abuso o negligencia infantil auto informado, está significativamente relacionado con la respuesta proinflamatoria al estrés psicosocial agudo en adultos por los demás sanos (65).

Además, se mostró que la exposición al estrés temprano en la vida aumenta la obesidad en adultos, mientras que otros han informado una relación entre el IMC y la respuesta de citocinas al estrés.

Este kit de ELISA SimpleStep ELISA para IL-6 humana es de tipo sándwich de 90 minutos de un solo lavado diseñado para la medición cuantitativa de la proteína IL-6 en suero humano, plasma y sobrenadante de cultivo celular. Emplea anticuerpos de captura conjugados con una etiqueta de afinidad que es reconocido por el anticuerpo monoclonal utilizado para recubrir las placas del kit. Este enfoque del ELISA en sándwich permite la formación del complejo sándwich de anticuerpo-analito en un solo paso, lo que reduce significativamente el tiempo de ensayo (figura 5) (66).

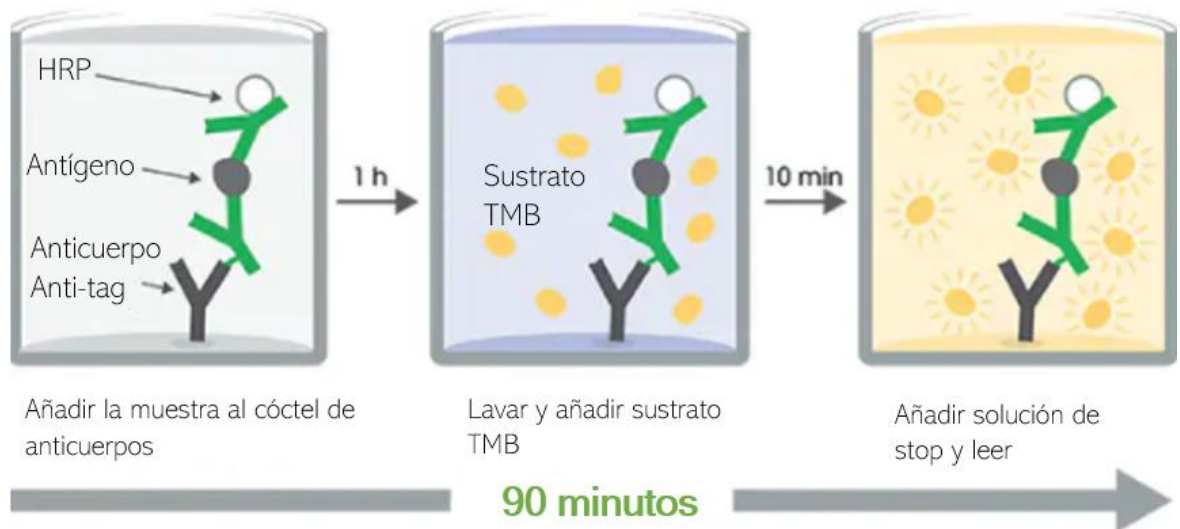


Figura 5. Esquema de procedimiento kit de ELISA SimpleStep (Tomado y adaptado de Abcam, 2020) (66).

En cuanto a la especificidad del kit, este reconoce la proteína IL-6 humana tanto nativa como recombinante en muestras de suero, plasma y sobrenadante de cultivo celular únicamente. Las muestras de extractos de células y tejidos no se han probado con este kit.

Esta citoquina es la que se mide generalmente en estos casos, pero no es para lo único que se utilizado ya que es una citoquina que posee una amplia variedad de funciones biológicas ya que es un potente inductor de la respuesta de fase aguda. Desempeña un papel esencial en la diferenciación final de las células B en células secretoras de Ig. Participa en la diferenciación de linfocitos y monocitos. Induce el crecimiento de mieloma y plasmocitoma e induce la diferenciación de las células nerviosas. Actúa sobre las células B, células T, hepatocitos, células progenitoras hematopoyéticas y células del SNC. También actúa como mioquina. Se descarga en el torrente sanguíneo después de la contracción muscular y actúa para aumentar la descomposición de grasas y mejorar la resistencia a la insulina (66).

8.4.4 MEDICIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTO

Uno de los kits que se utilizan para medir factores de crecimiento es el kit de My Bio source que mide específicamente anticuerpos de BDNF a través de técnicas de inmunoensayo ELISA (67)

Este ensayo tiene una alta sensibilidad y una excelente especificidad para la detección de BDNF humano, además de que no se ha observado algún tipo de reactividad cruzada significativa o interferencia entre el BDNF humano y análogos. La muestra que se utiliza es de suero o plasma, pero también se pueden utilizar cultivos celulares, homogeneizados de tejidos (67).

El kit en se compone de una placa de micropocillos con la presencia de analitos diana de BDNF en muestras biológicas. La técnica bioquímica analítica se basa en interacciones entre

anticuerpos anti-BDNF y antígenos BDNF a través de inmunoabsorción y un sistema colorimétrico para detectar dianas de antígeno BDNF en muestras. Los patrones y las muestras se pipetea en los pocillos y cualquier sustancia no unida, se agrega a los pocillos un anticuerpo conjugado con biotina específica para BDNF. Después del lavado, se añade a los pocillos peroxidasa de rábano picante conjugada con avidina. Después de un lavado para eliminar cualquier reactivo de avidina con enzimas que no se han unido, se agrega una solución de sustrato a los pocillos generando un cambio de color en proporción a la cantidad de BDNF unido al inicio de la reacción. Se detiene el desarrollo del color anteriormente mencionado y se mide la intensidad del color resultante (67).

8.4.5 MEDICIÓN DE NEUROPEPTIDO Y

Para la medición del Neuropeptido Y se puede utilizar cromatografía para su cuantificación a través de la extracción de LCR. Para esto se homogeniza la muestra y se mezcla con EDTA, cuando se identifica como se realizó en un estudio, se realiza a través de la separación de biopsias por cromatografía (32).

La purificación de ADN en gel es una técnica común para el aislamiento de fragmentos específicos de mezclas de reacción. Sin embargo, la mayoría de los métodos no eliminan completamente la agarosa o cortan el ADN, lo que puede provocar problemas en las manipulaciones posteriores. El kit de extracción de gel EZNA[®] utiliza química patentada y tecnología HiBind[®] para recuperar fragmentos de ADN entre 70 bp y 20 kb con rendimientos superiores al 85%. La banda de ADN de interés se escinde del gel, se disuelve en Binding Buffer y se transfiere a una mini columna de ADN híbrido. Después de tres pasos de lavados rápidos, el ADN se eluye con el tampón de elución y está listo para otras aplicaciones. El ADN es adecuado para ligaciones, PCR, secuenciación, digestión por restricción o diversas

reacciones de marcado. Además, este kit también se puede utilizar para recuperar ADN directamente de reacciones enzimáticas como PCR y reacciones de digestión enzimática (68)

8.4.6 MEDICIÓN DE NESFATINA 1

En un estudio en donde se examinó a un grupo de pacientes se les pidió que no fumaran, bebieran, comieran ni hicieran ejercicio por la mañana antes de la extracción de sangre. Las muestras que son de tipo hormonal se tomaron entre las 7:00 y las 8:00 de la mañana, después de un periodo de ayuno nocturno. Las muestras de sangre se centrifugaron inmediatamente y el plasma se congeló a -80°C hasta su posterior procesamiento (69).

La medición de nesfatina-1 se realiza con muestra de plasma y se puede utilizar kits de inmunoensayo ELISA como el de Phoenix Pharmaceuticals de acuerdo con las instrucciones del fabricante (69).

8.4.7 MEDICIÓN DE LEPTINA

Estas pruebas se realizan generalmente para averiguar cuanta grasa corporal hay en el cuerpo. Se puede realizar en conjunto con otros exámenes tales como A1C, para diabetes, presión arterial, absorciometría de doble energía que analiza músculos, huesos y grasa corporal e IMC (70).

Para estos tipos de análisis se requiere de una muestra de sangre, generalmente la cantidad de leptina en sangre es proporcional a la cantidad de tejido graso que hay en el cuerpo. Según un estudio en el cual se analizaron mujeres post menopáusicas, la cantidad de leptina se encuentra estrechamente relacionada con la dieta. Este análisis mostraba toda una vida de consumo de grasas (70).

Para leptina se puede utilizar Ensayos de inmunoanálisis que es ampliamente utilizado para detectar y cuantificar proteínas y antígenos de varias muestras. Los kits de ELISA para objetos específicos están disponibles en una variedad de fabricantes y pueden ayudar a optimizar sus experimentos de inmunodetección.

8.4.8 MEDICIÓN DE GHRELINA

Ghrelin ha sido analizada a través de kits tales como el kit Human Metabolic Hormone Magnetic Bead MILLIPLEX MAP Cat (71).

Este es un panel metabólico humano diseñado para el estudio de biomarcadores, analíticamente validados e integrados en un solo panel. Permite investigar la expresión de múltiples analitos simultáneamente, con la ventaja de una mayor velocidad y sensibilidad. Se puede elegir cualquier combinación del panel que se oferta y diseñar un kit personalizado según las necesidades como el análisis de ghrelin aislada, realizando la determinación de cada analito por duplicado. (72)

Este kit se basa en la tecnología Luminex una tecnología rápida que es capaz de realizar una variedad de bioensayos (inmunoanálisis) en la superficie de perlas magnéticas fluorescentes codificadas, conocidas como MagPlex TM-C (71)

El análisis se produce cuando las microesferas pasan rápidamente a través de un láser y son cuantificadas, obteniendo múltiples resultados de cada muestra. Cada kit lleva adjuntos los rangos de control para el analito que se va a determinar, cuantificados en pg/ml (71).

Otro de los kits que se utiliza para medir ghrelin al igual que otros marcadores se ha realizado a través de ELISA donde se cuantifica ghrelin en suero, plasma, solución tamponada o medio de cultivo celular humano (71).

Corresponde a un ELISA de tipo sándwich de la marca ThermoFisher de fase sólida de ghrelin humana que está diseñado para medir la cantidad del target unido entre un par de anticuerpos emparejados. Se ha recubierto previamente un anticuerpo específico del target en los pocillos de la microplaca suministrada. El siguiente paso es añadir las muestras, estándares o controles a estos pocillos y se unen al anticuerpo inmovilizado. El sándwich se forma mediante la adición del segundo anticuerpo (detector), se agrega una solución de sustrato que reacciona con el complejo enzima-anticuerpo-objetivo para producir una señal medible. La intensidad de esta señal es directamente proporcional a la concentración del objetivo presente en la muestra original (71).

8.4.9 MEDICIÓN DE OREXINA

Un método *in vitro* para identificar compuestos que modulen la actividad del receptor de orexina 2 humana comprende el combinar un supuesto modulador de la actividad del receptor de orexina 2 humana con receptores de orexina 2 humana contenida en el interior de membranas de células que poseen de forma no recombinante el receptor de orexina 2 humana en el que las células que poseen el receptor de orexina 2 humana son células PFSK-1 y también a través de la medición del efecto modulador sobre la actividad del receptor de orexina 2 humana (73).

En el caso de la identificación de moduladores del receptor de orexina 2 este se refiere a sistemas de ensayo para identificar moduladores de receptores celulares y que utilizan fuentes no recombinantes (73).

Varias líneas de pruebas celulares indican que el sistema de orexinas es un modulador importante del despertar. Los roedores a los que se les administra orexina por vía intracerebrovascular pasan más tiempo despiertos. Los efectos mediados por orexina sobre el despertar se han vinculado con proyecciones neuronales de orexina hacia neuronas histaminérgicas en el núcleo tuberomamilar (TMN). Las neuronas del TMN expresan el receptor de orexina 2 principalmente y el receptor de orexina 1 en menor grado. Los roedores a los que se les ha anulado el gen de pre-pro-orexina o cuyas neuronas orexigénicas se han destruido, presentan ciclos de sueño/vigilia alterados similares a la narcolepsia. Se ha demostrado que los modelos de narcolepsia en perros tienen receptores de orexina 2 mutantes o no funcionales (73).

Por lo tanto, los trastornos del ciclo sueño-vigilia son probablemente dianas para la actividad moduladora del receptor de orexina 2. Los ejemplos de trastornos del sueño-vigilia que pueden tratarse mediante agonistas u otros moduladores que regulen positivamente los procesos mediados por el receptor de orexina 2 incluyen la narcolepsia, el desacomodo horario (somnolencia) y trastornos del sueño secundarios a trastornos neurológicos, tales como depresión. Los ejemplos de trastornos que pueden tratarse mediante antagonistas u otros moduladores que regulen negativamente los procesos mediados por el receptor de

orexina 2 incluyen insomnio, síndrome de piernas inquietas, alteraciones en el horario (desvelo) y trastornos del sueño secundarios a trastornos neurológicos, tales como manías, esquizofrenia, síndromes de dolor y similares (73).

El sistema de orexinas también interacciona con los sistemas de dopamina del cerebro. Inyecciones por vía intra cerebro ventricular de orexina en ratones aumentan la actividad locomotora, el acicalamiento y las estereotipias; estos efectos conductuales se revierten mediante la administración de antagonistas del receptor de dopamina D2 (73).

Por lo tanto, pueden ser útiles moduladores de orexina 2 para tratar diversos trastornos neurológicos; por ejemplo, agonistas o reguladores positivos para tratar la catatonía, antagonistas o reguladores negativos para tratar la enfermedad de Parkinson, el síndrome de Tourette, la ansiedad, delirios y demencias (73).

8.4.10 MEDICIÓN DE CORTISOL

Estudios realizados en una población de pacientes con trastorno bipolar, han encontrado que aquellos que tenían un trastorno de pánico comórbido habían disminuido el CHC, mientras que los niveles de cortisol salival no se vieron afectados por el trastorno de pánico. Estas discordancias podrían explicarse por el hecho de que un entorno de investigación puede formar un estresor agudo, lo que podría aumentar los niveles de cortisol en circulación aguda, pero no afectar los niveles de cortisol en cabello. Además, estos ejemplos demuestran claramente que el cortisol capilar, que representa la exposición acumulativa a largo plazo, puede ofrecer una nueva información que puede resultar valiosa, además de las mediciones en ciertos puntos temporales que son más adecuados para obtener información sobre los cambios agudos (58).

La experiencia traumática y el trastorno de estrés postraumático (PTSD) también se han asociado con alteraciones en la función del eje HPA. Una experiencia traumática dará como resultado un aumento agudo de los niveles de cortisol debido a una reacción de estrés agudo. Los estudios de observación sugieren que después del evento traumático, las personas que desarrollan PTSD tienen niveles de cortisol circulante más bajos. Sin embargo, un metaanálisis reciente mostró que existe una diferencia general en los niveles de cortisol en orina, sangre o saliva. En este análisis se reveló que a niveles más bajos de cortisol a corto plazo o en puntos temporales en pacientes con PTSD y en sujetos con PTSD que estaban traumatizados por abuso físico o sexual, pero no en aquellos que estaban traumatizados por la guerra. Además, solo se observó una disminución en los estudios en los que los sujetos con PTSD se compararon con sujetos que no estuvieron expuestos a algún trauma, pero no existe esta disminución en pacientes traumatizados, pero sin PTSD. Esto indica que la exposición al trauma en lugar del posterior desarrollo de PTSD, es responsable de una disminución del cortisol (74).

Tanto el estrés físico como el psicológico pueden inducir una respuesta de estrés biológico en el cuerpo humano, incluida una hiperactivación del eje HPA. Gran parte de lo que se sabe sobre las respuestas del eje HPA a los factores estresantes se deriva de las mediciones de cortisol en la saliva. En particular, el cortisol salival se usa para investigar los cambios en la respuesta al despertar del cortisol y la respuesta al estrés inducido experimentalmente como en la prueba de estrés social de Trier. Como se mencionó anteriormente, el CHC puede medir los niveles de cortisol durante largos períodos de tiempo y, a diferencia de las mediciones salivales y séricas, no se ve afectado por la influencia del estrés agudo o la hora del día en el momento del muestreo. Por lo tanto, es un método muy atractivo para investigar la asociación entre los factores estresantes de la vida real y la exposición a cortisol a largo plazo (75).

Ejemplos de estresores físicos son enfermedades graves, ejercicio extremo e inanición. Otro estresor físico común, y quizás también parcialmente psicológico, es la interrupción del ritmo circadiano (76).

La relación entre el estrés psicológico experimentado y el eje HPA es compleja. Se han informado resultados contradictorios en la asociación entre el estrés percibido y el CHC. Tanto el aumento como la disminución del CHC se han asociado con un mayor estrés percibido, mientras que otros estudios no han podido encontrar una relación por completo.

Esta heterogeneidad podría ser una consecuencia de la composición diversa de las muestras de estudio, que van desde pacientes con enfermedad coronaria hasta estudiantes universitarios. Sin embargo, la investigación publicada respalda una asociación entre eventos vitales (negativos) experimentados recientemente, como la pérdida de un ser querido o un examen importante, y un aumento de CHC o cortisona capilar en estudiantes universitarios, niñas de primaria, pacientes con trastorno bipolar y consumidores de crack. Otros factores estresantes psicológicos que se han asociado con un aumento del CHC son el ingreso a la escuela en niños, el cuidado de un familiar con demencia, las perspectivas de ascenso y el desempleo (77, 78).

Se cree que el CAR (respuesta del cortisol al despertar en sus siglas en inglés) refleja la sensibilidad del eje HPA al despertar, pero también puede desempeñar un papel importante en otros procesos inducidos en este proceso como la restauración de la conciencia y el estado de alerta completo, los cambios en otras hormonas y equilibrio del sistema inmune, así como la movilización del sistema motor. Estudios han revelado que la CAR aumenta la secreción de cortisol de forma brusca después de despertar y alcanza su punto máximo entre 30 y 45 minutos después y normaliza sus niveles luego de 60 minutos. En adultos sanos, la magnitud máxima de aumento es del 50% hasta más del 100% en comparación a los valores normales. El CAR generalmente se evalúa en un mínimo de dos días, ya que se ha demostrado que esto aumenta la confiabilidad de la medida. El cambio en el CAR se puede calcular de muchas maneras, incluyendo cambios a través del tiempo en distintos puntos a lo largo de los primeros 60 minutos, calculando la diferencia entre el nivel máximo de cortisol con el de base (58).

Como el CAR se inicia al despertar, su sistema regulador es relativamente distinto de la regulación del cortisol a lo largo del día. De hecho, está influenciado por el núcleo supraquiasmático hipotalámico (SCN en sus siglas en inglés), con el eje HPA y el sistema nervioso simpático desempeñando un papel en el ajuste a la entrada neural directa que se mueve hacia la corteza suprarrenal. Por ejemplo, se ha sugerido que la interacción entre la función de SCN y los mecanismos reguladores que controlan el eje HPA (por ejemplo, la entrada del hipocampo) puede ser la base del cambio en la sensibilidad suprarrenal a la ATH de reducirse antes de despertar y a aumentar luego de esta acción, contribuyendo así al aumento de cortisol en respuesta al despertar.

Estudios realizados a población sana han demostrado que ciertas variables sociodemográficas, así como procedimientos de muestreo de cortisol y los indicadores de salud física, están relacionados con CAR. Por ejemplo, las mujeres generalmente presentan una CAR más alta en comparación con los hombres, aunque existen estudios que no encontraron diferencias. Además, la edad avanzada parece estar asociada con una CAR más baja. Otro aspecto que también influye es el día de la semana, siendo mayor en los días de semana, la hora de despertar y posiblemente influencias estacionales. También influyen los indicadores de salud física, como la buena salud general, se han relacionado con una CAR más alta, mientras que fumar también aumentan los niveles. Por lo tanto, es importante controlar estos factores en cualquier estudio que investigue la relevancia de CAR para la vulnerabilidad a la depresión (79, 80).

Ciertos rasgos psicológicos como el neuroticismo, la desesperanza, el afecto negativo, la depresión subclínica o los antecedentes familiares de MDD se han asociado con una mayor vulnerabilidad para desarrollar depresión. Además, la cognición perseverante o la preocupación se han relacionado con trastornos del estado de ánimo, ambos depresión y ansiedad. Por lo tanto, una forma de evaluar la relevancia de CAR con respecto a la depresión es examinar de qué manera algunos de estos factores de riesgo de depresión se han relacionado con la variabilidad en CAR (81).

Como es el caso entre las medidas de CAR y los factores de riesgo de depresión, la depresión en sí misma también se ha asociado con un aumento y disminución de CAR. Un gran estudio que investigó a los sujetos deprimidos de mediana edad actuales encontró que una asociación similar en una muestra de mujeres adolescentes, así como de mujeres adolescentes, así como de mujeres adultas jóvenes, que actualmente sufren de depresión. Niveles más altos de CAR también se han observado en una muestra de personas de mediana edad utilizando medicamentos, así como en pacientes deprimidos sin medicación (81).

En cuanto a la medición bioquímica del cortisol incluye una prueba dinámica es lo que más se utiliza para el diagnóstico de hipo e hipercortisolismo. Además de estos trastornos endocrinos, se han estudiado ampliamente variaciones sutiles en la exposición y la sensibilidad al cortisol en relación con una amplia gama de características de salud y enfermedad, incluidos aspectos del metabolismo, inflamación, enfermedad cardiovascular y comportamiento. Los niveles sistémicos de cortisol son muy variables, lo que se debe al ritmo

diurno, el estrés agudo y la secreción pulsátil. Las mediciones de cortisol en sangre, saliva y orina solo representan la exposición a cortisol a corto plazo o en el tiempo, lo que limita la representación de los niveles circulantes de cortisol a largo plazo. Además, estas pruebas dependen en gran medida de la adherencia del paciente a las instrucciones de recolección o se perciben como invasivas (58).

8.4.10.1 MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE CORTISOL

Dentro de las muestras que se han utilizado durante las últimas décadas para la evaluación de toxinas y drogas ambientales está el análisis de cabello. El cabello crece a un ritmo relativamente constante de un centímetro por mes. En los mechones de cabello se pueden retener varias sustancias, por lo tanto, la medición de ellos puede servir como una matriz para medir la exposición a largo plazo a una amplia variedad de toxinas y hormonas. Además, al dividir las muestras de cabello en diferentes segmentos y analizarlas por separado, se pueden crear cronogramas retrospectivos de exposición. En los últimos años, varios laboratorios han ampliado el análisis del cabello para medir los niveles a largo plazo de cortisol y otras hormonas esteroides. Esto ha permitido a los investigadores indagar la exposición al cortisol durante períodos de tiempo mucho más largos, siendo de meses a años, que antes con muestras de sangre, saliva u orina. En consecuencia, se han realizado un gran número de estudios transversales y se han examinado las asociaciones entre las concentraciones de cortisol capilar y una amplia gama de medidas de salud mental y somática (58, 76)

La recolección del cabello es sencilla y se realiza fácilmente en un entorno ambulatorio. De acuerdo con las pautas publicadas por “The Society of Hair Testing”, la muestra de cabello se recoge del vértice posterior. Las tijeras se usan para cortar un mechón de cabello tan grueso como un lápiz, lo más cerca posible del cuero cabelludo (76).

Dependiendo de lo que se quiere investigar, se utilizan segmentos de cabello de uno, hasta varios centímetros de longitud para el análisis. Las muestras se pesan y en la mayoría de los métodos publicados se lavan. Los esteroides se extraen en metanol durante la noche y luego se procesan más dependiendo del tipo de análisis utilizado. El cortisol extraído se puede medir usando métodos de inmunoensayo o cromatografía líquida por espectrometría de masas (76).

7.4.10.2 KITS DE ANÁLISIS DE CORTISOL

La mayoría de los kits de diagnóstico de saliva disponibles actualmente requieren materiales de recolección adicionales para la muestra de saliva, como viales de almacenamiento que deben estar personalizados y cada uno con su tampón para múltiples pasos de pretratamiento. El kit de muestreo adicional puede causar la contaminación o infección por el mal manejo de las muestras de saliva. Por lo tanto, hay una gran demanda para el desarrollo de un método de muestreo integrado o simple para abordar los problemas complejos sobre el método de muestreo de saliva. En un estudio realizado en base a información de kits, se dio a conocer un método llamado LOC (lab on a chip) el cual utiliza polímeros en un chip con el uso de reactivos secos, es un método de muestreo simple por análisis cuantitativo de cortisol en la saliva. el LOC recientemente desarrollado fue completamente caracterizado y optimizado para la recuperación óptima de reactivos secos y el ensayo mejorado de flujo capilar microfluídico de cortisol (82).

Con el fin de desarrollar un sistema POCT completo, se construyó un sistema analizador de fluorescencia portátil y un cartucho LOC desechable para adaptarse a los LOC desarrollados, lo que garantizó un manejo seguro del muestreo de saliva, así como una alineación precisa entre los sensores fotónicos y los LOC para obtener resultados cuantitativos precisos en la medición de cortisol. El nuevo LOC que se desarrolló en el

trabajo para el análisis rápido y cuantitativo del cortisol en la saliva puede ser una de las plataformas más prometedoras para el diagnóstico en tiempo real de los trastornos de estrés debido a su naturaleza de muestreo no invasivo sin estrés adicional por el muestreo de sangre invasivo y doloroso (Figura 6) (82).

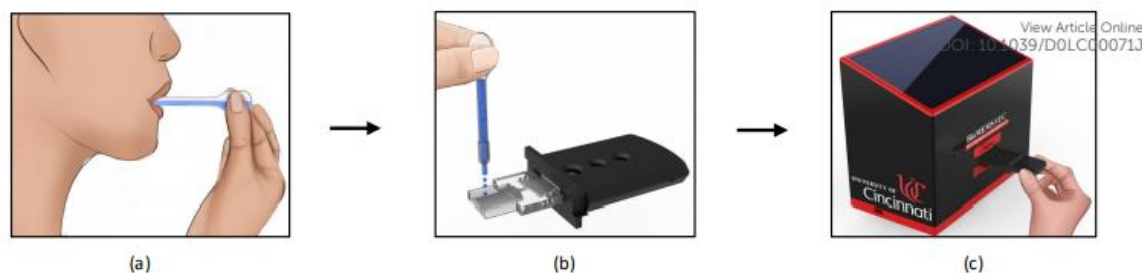


Figura 6. Muestreo rápido de saliva y proceso de detección de inmunoensayo en chip: (a) muestreo simple y rápido, (b) caída de saliva muestreada y filtrada en un dispositivo MCFA; y (c) inserción del cartucho cerrado en el analizador de fluorescencia portátil para la detección cuantitativa de POCT de cortisol salival (Tomada de Vinitha, 2020) (82).

Existen otros ensayos como el existente de Salimetrics el cual utiliza un volumen de muestra pequeña, este kit de ensayo tiene un rango extendido que abarca los niveles de cortisol esperados que se encuentran en la saliva humana. Los coeficientes medios de variación de precisión entre ensayos e intraensayos son bajos y no se encuentran a menudo efectos deletéreos en la matriz en la saliva que se caracterizan mediante procedimientos de validación de dilución y recuperación de peaks. El kit de ensayo de cortisol de Salimetrics también se ha formateado para minimizar la reactividad cruzada para los esteroides relacionados. Los kits de análisis de saliva Salimetrics estén diseñados, desarrollados y validados por expertos para garantizar la precisión en la saliva y se ha demostrado que brindados resultados precisos para los biomarcadores en la saliva (83).

Los niveles de cortisol salival no se ven afectados por la velocidad del flujo salival y son relativamente resistentes a la degradación de las enzimas o los ciclos de congelación-descongelación. Los estudios informan consistentemente altas correlaciones entre el cortisol sérico y salival, lo que indica que los niveles de cortisol salival estiman de manera confiable los niveles de cortisol sérico. La producción de cortisol tiene un ritmo circadiano como se ha mencionado, con niveles que alcanzan su punto máximo temprano en la mañana y los valores

disminuyen llegando a la noche. Sin embargo en respuesta al estrés los niveles aumentan independientemente del ritmo circadiano (84).

El kit de inmunoensayo enzimático de cortisol Salimetrics es de tipo competitivo y se debe considerar que no está diseñado para uso diagnóstico. Está destinado únicamente para uso en investigación en humanos y algunos animales, además no se ha validado para muestras de suero o plasma (83).

En la sangre solo alrededor del 5 a 10% del cortisol está en su forma libre o biológicamente activa. El cortisol restante se une a las proteínas séricas. El cortisol sérico libre entra en la saliva a través de mecanismos intracelulares; en la saliva, la mayor parte del cortisol permanece libre de proteínas. Los niveles de cortisol salival no se ven afectados por la velocidad de flujo salival y son relativamente resistentes a la degradación de las enzimas o los ciclos de congelación-descongelación. Los estudios informan consistentemente altas correlaciones entre el cortisol sérico y salival, lo que indica que los niveles de cortisol salival estiman de manera confiable los niveles de cortisol sérico (85).

El principio del ensayo consiste en la competición del cortisol con el cortisol conjugado con peroxidasa de rábano picante por los sitios de unión del anticuerpo en una placa de micro titulación. Después de la incubación, los componentes no unidos se eliminan por lavado. El conjugado de la enzima unida al cortisol se mide mediante reacción de la enzima peroxidasa de rábano picante al sustrato tetrametilbencidina (TMB). Esta reacción produce un color azul. Se forma un color amarillo después de detener la reacción con una solución ácida. La densidad óptica se lee en un lector de placas estándar a 450 nm. La cantidad de conjugado de enzima cortisol detectada es inversamente proporcional a la cantidad de cortisol presente en la muestra (83).

Otro kit ELISA va de la mano con TECAN de IBL International Cortisol Saliva es una excelente alternativa al método LC-MS/MS complejo y relativamente costoso actual para determinar el cortisol en la saliva con la mayor precisión posible (86).

La investigación del cortisol en la saliva está indicada en el diagnóstico de problemas clínicos en diversos campos científico-médicos, en particular endocrinología, psicología, medicina deportiva, pediatría, medicina antienvjecimiento y medicina veterinaria.

Medir los niveles de cortisol libre en la saliva es una forma muy sencilla y cómoda de comprobar el funcionamiento de la glándula suprarrenal. Los niveles de cortisol persistentemente elevados o disminuidos se encuentran a menudo en pacientes con disfunción suprarrenal (84).

Ese inmunoensayo determina de forma cuantitativa los niveles de cortisol libre in vitro para diagnóstico en saliva humana y del cortisol total de suero diluido. El cortisol generalmente se conoce como la “hormona del estrés”, ya que participa en la respuesta del estrés y ansiedad. Aumenta la presión arterial y el azúcar en sangre y reduce las respuestas inmunitarias. La monitorización del cortisol libre está indicada en enfermedades con producción anormal de glucocorticoides como en síndrome de Cushing y la enfermedad de Addison. Debido a la fluctuación diurna de los niveles de cortisol, es necesario tomar varias muestras para un perfil de cortisol individual o durante pruebas dinámicas como la supresión de dexametasona o estimulación con ACTH. Además, se puede señalar la disfunción suprarrenal mediante la medición concomitante de las hormonas de estrés más importantes, el cortisol y la DHEA. El cortisol ayuda a evaluar la respuesta al estrés. El desequilibrio suprarrenal puede ser un factor en muchas condiciones clínicas relacionadas que incluyen, por ejemplo, fibromialgia, hipotiroidismo, síndrome de fatiga crónica y depresión (86).

Finalmente, en la Tabla 2, se muestra un resumen de biomarcadores mencionados anteriormente y su método de medición.

Tabla 2. Resumen Biomarcadores y sus métodos de medición (Elaboración propia).

Biomarcador	Técnica	Kit	Tipo de muestra
IL-6	Inmunoensayo	SimpleStep ELISA	Sangre, saliva
BDNF	Inmunoensayo	My Bio source	Sangre
NPY	Inmunoensayo	EZNA ®	Sangre
Nesfatina 1	Inmunoensayo	Phoenix Pharmaceuticals	Sangre
Leptina	Inmunoensayo	Invitrogen	Sangre
Ghrelina	Inmunoensayo	Human Metabolic Hormone Magnetic Bead MILLIPLEX MAP Cat	Sangre
Orexina	Estimulación		Sangre
Insulina	Inmunoensayo	Invitrogen	Sangre
Cortisol	Inmunoensayo, cromatografía	Salimetrics assay, TECAN	Sangre, saliva, suero
Nota. IL-6: Interleuquina 6, BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro, NPY: Neuropeptido Y.			

9. CONCLUSIONES

Trastorno Depresivo Mayor es una enfermedad que parece seguir siendo uno de los trastornos psiquiátricos más prevalente que muchas veces presenta síntomas leves e inespecíficos lo que lleva a confundirlos con enfermedades similares.

Además, existen distintos factores que pueden influir en su medición, ya que la respuesta del organismo frente a esta enfermedad incluyendo eventos de la infancia, trabajo, estimulación externa que lleva al individuo a la condición de depresión.

El marcador que se mide de forma más común es el cortisol, existiendo una gran variedad de kits para su medición tanto en sangre como en saliva o cabello. Otros marcadores representativos debido a la activación del sistema inmune en depresión y asociado al estrés es IL-6.

A pesar de que se utilice con mayor frecuencia la medición de cortisol, también se utiliza la leptina y ghrelina que son importantes péptidos que regulan el consumo de alimentos, el peso corporal y juegan un gran role en el apetito en personas que sufren de depresión.

Otros biomarcadores también están involucrados en los cambios metabólicos y del apetito en los trastornos depresivos como citoquinas inflamatorias, BDNF y VEGF, y por su parte orexina y nesfatina están relacionadas con la regulación del comportamiento tanto en el sueño como la alimentación en pacientes deprimidos.

La utilización actual de cabello para análisis o de saliva para la medición de cortisol ha sido de gran ayuda ya que disminuye la posibilidad de traumas luego de la extracción de sangre, utilizándose más y de rutina. Pero se debe considerar que en el caso del cortisol presenta fluctuación en sus niveles, por lo que es importante saber la hora a la que se debe realizar el examen.

Finalmente, la utilización de biomarcadores para depresión ayuda significativamente a la comprensión de la enfermedad, sirviendo de apoyo para su detección, pero sigue siendo un desafío ya que los trastornos depresivos y asociados siguen en aumento debido al estilo de

vida y situaciones de la vida actual que conlleva muchas veces de forma involuntaria a estas condiciones.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Depresión <https://www.who.int/topics/depression/es/2019>
2. Saveanu RV, Nemeroff CB. Etiology of Depression: Genetic and Environmental Factors. *Psychiatric Clinics of North America*. 2012;35(1):51-+.
3. Willner P, Scheel-Kruger J, Belzung C. The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2013;37(10):2331-71.
4. Bedregal P., Margozzini P., González C. Informe Final, Estudio de carga de Enfermedad y carga Atribuible. Santiago, Chile: Ministerio de Salud de Chile; 2008.
5. Valdivia G., Prieto J., Guerrero A. Encuesta Nacional de Salud ENS Chile 2009-2010. Chile: MINSAL, Pontificia Universidad Católica de Chile, Universidad Alberto Hurtado 2011.
6. Vallebuona. Primera Encuesta Nacional de Empleo, Trabajo, Salud y Calidad de Vida de los Trabajadores y Trabajadoras en Chile. Chile: MINSAL, Dirección de Trabajo, ISL; 2011.
7. Amer AAA, Zhu Y, Wei SN, Zhang R, Wang Y, Duan J, et al. Relationship Between White Matter Integrity and Plasma Leptin Levels in Drug-Naive and Medicated Patients With Major Depressive Disorder. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13.
8. Belmaker RH, Agam G. Mechanisms of disease: Major depressive disorder. *New England Journal of Medicine*. 2008;358(1):55-68.
9. Silva H. Nuevas perspectivas en la biología de la depresión. *Revista chilena de neuropsiquiatría*. 2002;40:9-20.
10. Herráez E. Marcadores biológicos en la Depresión Mayor [Trabajo de Fin de Grado]. Basauri: Universidad del País Vasco; 2017.
11. Bopp SK, Heilbronner U, Schlattmann P, Muhleisen TW, Bschor T, Richter C, et al. Leptin gene polymorphisms are associated with weight gain during lithium augmentation in patients with major depression. *European Neuropsychopharmacology*. 2019;29(2):211-21.
12. Beck AT. The evolution of the cognitive model of depression and its neurobiological correlates. *American Journal of Psychiatry*. 2008;165(8):969-77.
13. van het Rot M, Mathew SJ, Charney DS. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *Canadian Medical Association Journal*. 2009;180(3):305-13.
14. Mendoza C. Aplicación clínica de marcadores periféricos de respuesta a la terapia antidepressiva: neurotrofinas y citocinas. *Revista Colombiana Psiquiatría*. 2012:165-84.
15. Carboni L, McCarthy DJ, Delafont B, Filosi M, Ivanchenko E, Ratti E, et al. Biomarkers for response in major depression: comparing paroxetine and venlafaxine from two randomised placebo-controlled clinical studies. *Translational Psychiatry*. 2019;9:12.
16. Ohishi K, Ueno R, Nishino S, Sakai T, Hayaishi O. Increased level of salivary prostaglandins in patients with major depression. *Biological Psychiatry*. 1988;23(4):326-34.
17. Felger JC, Lotrich FE. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience*. 2013;246:199-229.

18. Sun QR, Cui CY, Fu YX, Ma SM, Li HX. Nursing interventions in depressed children with low serum levels of BDNF. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2017;14(4):2947-52.
19. Carvalho AF, Kohler CA, McIntyre RS, Knochel C, Brunoni AR, Thase ME, et al. Peripheral vascular endothelial growth factor as a novel depression biomarker: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;62:18-26.
20. Fairbrother U, Kidd E, Malagamuwa T, Walley A. Genetics of Severe Obesity. *Current Diabetes Reports*. 2018;18(10).
21. Bozdagi O, Rich E, Tronel S, Sadahiro M, Patterson K, Shapiro ML, et al. The neurotrophin-inducible gene Vgf regulates hippocampal function and behavior through a brain-derived neurotrophic factor-dependent mechanism. *Journal of Neuroscience*. 2008;28(39):9857-69.
22. Li NX, Lee B, Liu RJ, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M, et al. mTOR-Dependent Synapse Formation Underlies the Rapid Antidepressant Effects of NMDA Antagonists. *Science*. 2010;329(5994):959-64.
23. Schmidt HD, Shelton RC, Duman RS. Functional Biomarkers of Depression: Diagnosis, Treatment, and Pathophysiology. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(12):2375-94.
24. Chan MK, Gottschalk MG, Haenisch F, Tomasik J, Ruland T, Rahmoune H, et al. Applications of blood-based protein biomarker strategies in the study of psychiatric disorders. *Progress in Neurobiology*. 2014;122:45-72.
25. Sharma AN, Silva B, Soares JC, Carvalho AF, Quevedo J. Role of trophic factors GDNF, IGF-1 and VEGF in major depressive disorder: A comprehensive review of human studies. *Journal of Affective Disorders*. 2016;197:9-20.
26. Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V. Neuropeptide-Y - A novel brain peptide with structural similarities to peptide-yy and pancreatic-polypeptide. *Nature*. 1982;296(5858):659-60.
27. Dequidt ME, Emson PC. Distribution of Neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central-nervous-system .1. radioimmunoassay and chromatographic characterization. *Neuroscience*. 1986;18(3):527-43.
28. Ribeiro-da-Silva M, Vasconcelos DM, Alencastre IS, Oliveira MJ, Linhares D, Neves N, et al. Interplay between sympathetic nervous system and inflammation in aseptic loosening of hip joint replacement. *Scientific Reports*. 2018;8.
29. Hassan AM, Mancano G, Kashofer K, Frohlich EE, Matak A, Mayerhofer R, et al. High-fat diet induces depression-like behaviour in mice associated with changes in microbiome, neuropeptide Y, and brain metabolome. *Nutritional Neuroscience*. 2019;22(12):877-93.
30. Serova LI, Tillinger A, Alaluf LG, Laukova M, Keegan K, Sabban EL. Single intranasal neuropeptide y infusion attenuates development of ptsd-like symptoms to traumatic stress in rats. *Neuroscience*. 2013;236:298-312.
31. Schmeltzer SN, Herman JP, Sah R. Neuropeptide Y (NPY) and posttraumatic stress disorder (PTSD): A translational update. *Experimental Neurology*. 2016;284:196-210.
32. Kautz M, Charney DS, Murrough JW. Neuropeptide Y, resilience, and PTSD therapeutics. *Neuroscience Letters*. 2017;649:164-9.
33. Dore R, Levata L, Lehnert H, Schulz C. Nesfatin-1: functions and physiology of a novel regulatory peptide. *Journal of Endocrinology*. 2017;232(1):R45-R65.

34. Price CJ, Hoyda TD, Samson WK, Ferguson AV. Nesfatin-1 influences the excitability of paraventricular nucleus neurones. *Journal of Neuroendocrinology*. 2008;20(2):245-50.
35. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Lembke V, Ahnis A, Elbelt U, et al. Ghrelin and NUCB2/nesfatin-1 are expressed in the same gastric cell and differentially correlated with body mass index in obese subjects. *Histochemistry and Cell Biology*. 2013;139(6):909-18.
36. Merali Z, McIntosh J, Kent P, Michaud D, Anisman H. Aversive and appetitive events evoke the release of corticotropin-releasing hormone and bombesin-like peptides at the central nucleus of the amygdala. *Journal of Neuroscience*. 1998;18(12):4758-66.
37. Kuhne SG, Schalla MA, Friedrich T, Kobelt P, Goebel-Stengel M, Long M, et al. Nesfatin-1(30-59) Injected Intracerebroventricularly Increases Anxiety, Depression-Like Behavior, and Anhedonia in Normal Weight Rats. *Nutrients*. 2018;10(12).
38. Caroleo M, Carbone EA, Primerano A, Foti D, Brunetti A, Segura-Garcia C. The role of hormonal, metabolic and inflammatory biomarkers on sleep and appetite in drug free patients with major depression: A systematic review. *Journal of Affective Disorders*. 2019;250:249-59.
39. Zhang YY, Chua S. Leptin Function and Regulation. *Comprehensive Physiology*. 2018;8(1):351-69.
40. Gorska E, Popko K, Wasik M. Leptin and its receptor in hematologic malignancies. *Central European Journal of Immunology*. 2010;35(3):176-8.
41. Ge TT, Fan J, Yang W, Cui RJ, Li BJ. Leptin in depression: a potential therapeutic target. *Cell Death & Disease*. 2018;9.
42. Bearden CE, Thompson PM, Avedissian C, Klunder AD, Nicoletti M, Dierschke N, et al. Altered hippocampal morphology in unmedicated patients with major depressive illness. *Asn Neuro*. 2009;1(4).
43. Rosado EL, Monteiro JB, Chaia V, do Lago MF. Effect of leptin in the treatment of obesity and influences of diet in the secretion and action of hormone. *Nutricion Hospitalaria*. 2006;21(6):686-93.
44. Kondziella D, Cheung M, Dutta A. Public perception of the vegetative state/unresponsive wakefulness syndrome: A crowdsourced study. *European Journal of Neurology*. 2019;26:734-5.
45. Shariq AS, Rosenblat JD, Alageel A, Mansur RB, Rong C, Ho RC, et al. Evaluating the role of orexins in the pathophysiology and treatment of depression: A comprehensive review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2019;92:1-7.
46. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. *Biological Psychiatry*. 2009;65(9):732-41.
47. Méndez-Sánchez N, Chávez-Tapia NC, Uribe-Esquivel M. La ghrelina y su importancia con el eje gastrohipotalámico. *Gaceta médica de México*. 2006;142:49-58.
48. Moon M, Kim HG, Hwang L, Seo JH, Kim S, Hwang S, et al. Neuroprotective Effect of Ghrelin in the 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine Mouse Model of Parkinson's Disease by Blocking Microglial Activation. *Neurotoxicity Research*. 2009;15(4):332-47.
49. Moon M, Choi JG, Nam DW, Hong HS, Choi YJ, Oh MS, et al. Ghrelin Ameliorates Cognitive Dysfunction and Neurodegeneration in Intrahippocampal Amyloid-beta(1-42) Oligomer-Injected Mice. *Journal of Alzheimers Disease*. 2011;23(1):147-59.

50. Morin V, Hozer F, Costemale-Lacoste JF. The effects of ghrelin on sleep, appetite, and memory, and its possible role in depression: A review of the literature. *Encephale-Revue De Psychiatrie Clinique Biologique Et Therapeutique*. 2018;44(3):256-63.
51. Francois M, Schaefer JM, Bole-Feysot C, Dechelotte P, Verhulst FC, Fetissoff SO. Ghrelin-reactive immunoglobulins and anxiety, depression and stress-induced cortisol response in adolescents. The TRAILS study. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2015;59:1-7.
52. Akca OF, Uzun N, Kilinc I. Orexin A in adolescents with anxiety disorders. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*.8.
53. Ji MJ, Zhang XY, Chen Z, Wang JJ, Zhu JN. Orexin prevents depressive-like behavior by promoting stress resilience. *Molecular Psychiatry*. 2019;24(2):282-93.
54. Moulton CD, Pickup JC, Ismail K. Depression and diabetes 2 The link between depression and diabetes: the search for shared mechanisms. *Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2015;3(6):461-71.
55. Katon WJ, Russo JE, Heckbert SR, Lin EHB, Ciechanowski P, Ludman E, et al. The relationship between changes in depression symptoms and changes in health risk behaviors in patients with diabetes. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2010;25(5):466-75.
56. Obregón J. ¿Qué es el Cortisol y para qué sirve? labysalud2019 [Available from: <https://labysalud.cl/que-es-el-cortisol-y-para-que-sirve/>].
57. Rivas-Vazquez RA, Saffa-Biller D, Ruiz I, Blais MA, Rivas-Vazquez A. Current issues in anxiety and depression: Comorbid, mixed, and subthreshold disorders. *Professional Psychology-Research and Practice*. 2004;35(1):74-83.
58. Dedovic K, Ngiam J. The cortisol awakening response and major depression: examining the evidence. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2015;11:1181-9.
59. Hoifodt RS, Waterloo K, Wang CEA, Eisemann M, Figenschau Y, Halvorsen M. Cortisol levels and cognitive profile in major depression: A comparison of currently and previously depressed patients. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;99:57-65.
60. Morera L TT, Perez E, Medrano L. Biomarcadores en la medición del estrés: una revisión sistemática. 2019. p. 49-58.
61. Bastarache JA, Koyama T, Wickersham NE, Ware LB. Validation of a multiplex electrochemiluminescent immunoassay platform in human and mouse samples. *Journal of Immunological Methods*. 2014;408:13-23.
62. Munoz-Navarro R, Cano-Vindel A, Ruiz-Rodriguez P, Medrano LA, Gonzalez-Blanch C, Moriana JA, et al. Diagnostic and referral hierarchical model of common mental disorders in primary care centers. The PsicAP clinical trial approach. *Ansiedad Y Estrés-Anxiety and Stress*. 2017;23(2-3):124-9.
63. Miller GE, Chen E, Fok AK, Walker H, Lim A, Nicholls EF, et al. Low early-life social class leaves a biological residue manifested by decreased glucocorticoid and increased proinflammatory signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(34):14716-21.
64. Weinstein AA, Deuster PA, Francis JL, Bonsall RW, Tracy RP, Kop WJ. Neurohormonal and inflammatory hyper-responsiveness to acute mental stress in depression. *Biological Psychology*. 2010;84(2):228-34.
65. Carpenter LL, Gawuga CE, Tyrka AR, Lee JK, Anderson GM, Price LH. Association between Plasma IL-6 Response to Acute Stress and Early-Life Adversity in Healthy Adults. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(13):2617-23.

66. Abcam. Human IL-6 ELISA Kit 2020 [Available from: <https://www.abcam.com/human-il-6-elisa-kit-ab178013.html>].
67. Mybiosource. BDNF elisa kit :: Human brain-derived neurotrophic factor ELISA Kit 2020 [Available from: <https://www.mybiosource.com/bdnf-human-elisa-kits/brain-derived-neurotrophic-factor/700602>].
68. Donoso MV, Miranda R, Irarrazaval MJ, Moran S, Zalaquett R, Huidobro-Toro JP. Neuropeptide Y contribution to the physiology of human sympathetic co transmission. Studies in saphenous vein biopsies. *Revista Medica De Chile*. 2000;128(8):829-38.
69. Feijoo-Bandin S, Rodriguez-Penas D, Garcia-Rua V, Mosquera-Leal A, Otero MF, Pereira E, et al. Nesfatin-1 in Human and Murine Cardiomyocytes: Synthesis, Secretion, and Mobilization of GLUT-4. *Endocrinology*. 2013;154(12):4757-67.
70. Carefirst. Leptina (en sangre) 2017 [Available from: https://carefirst.staywellsolutionsonline.com/Spanish/RelatedItems/167,leptin_blood_ES].
71. ThermoFisher. Ghrelin Human ELISA Kit 2020 [Available from: <https://www.thermofisher.com/elisa/product/Ghrelin-Human-ELISA-Kit/BMS2192>].
72. Bueno M. Hormonas del hambre y saciedad y conectividad funcional en el hipotálamo y en estructuras relacionadas con pacientes adultos con Síndrome de Prader-Willy: Universidad Autónoma de Barcelona; 2017.
73. Timothy W. Método para identificar moduladores del receptor de orexina-2 humano.; 2003.
74. Meewisse ML, Reitsma JB, De Vries GJ, Gersons BPR, Olf M. Cortisol and post-traumatic stress disorder in adults - Systematic review and meta-analysis. *British Journal of Psychiatry*. 2007;191:387-92.
75. Hellhammer DH, Wust S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(2):163-71.
76. Wester VL, van Rossum EFC. Clinical applications of cortisol measurements in hair. *European Journal of Endocrinology*. 2015;173(4):M1-M10.
77. Steinisch M, Yusuf R, Li J, Stalder T, Bosch JA, Rahman O, et al. Work stress and hair cortisol levels among workers in a Bangladeshi ready-made garment factory - Results from a cross-sectional study. *Psychoneuroendocrinology*. 2014;50:20-7.
78. Van Uum SHM, Sauve B, Fraser LA, Morley-Forster P, Paul TL, Koren G. Elevated content of cortisol in hair of patients with severe chronic pain: A novel biomarker for stress. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress*. 2008;11(6):483-8.
79. Bhagwagar Z, Hafizi S, Cowen PJ. Increase in concentration of waking salivary cortisol in recovered patients with depression. *American Journal of Psychiatry*. 2003;160(10):1890-1.
80. Aubry JM, Jermann F, Gex-Fabry M, Bockhorn L, Van der Linden M, Gervasoni N, et al. The cortisol awakening response in patients remitted from depression. *Journal of Psychiatric Research*. 2010;44(16):1199-204.
81. Adam EK, Doane LD, Zinbarg RE, Mineka S, Craske MG, Griffith JW. Prospective prediction of major depressive disorder from cortisol awakening responses in adolescence. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35(6):921-31.
82. Vinitha T SG, Alexander M, Thinh N, Chong H. A New Polymer Lab-On-A-Chip (LOC) Based on a Microfluidic Capillary Flow Assay (MCFA) for Detecting Unbound Cortisol in Saliva. 2020;11:1961-74.
83. Salimetrics. Salivary Cortisol ELISA kit 2020 [Available from: <https://salimetrics.com/assay-kit/salivary-cortisol-elisa-kit/>].

84. Herane-Vives A, Young AH, Wise T, Aguirre J, de Angel V, Arnone D, et al. Comparison of short-term (saliva) and long-term (hair) cortisol levels in out-patients with melancholic and non-melancholic major depression. *Bjpsych Open*. 2020;6(3).
85. Koudela-Hamila S, Smyth J, Santangelo P, Ebner-Priemer U. Examination stress in academic students: a multimodal, real-time, real-life investigation of reported stress, social contact, blood pressure, and cortisol. *Journal of American College Health*.
86. TECAN. Cortisol Saliva ELISA 2020 [Available from: <https://www.ibl-international.com/en/cortisol-saliva-elisa>].