

Fisiopatogenia en Psiquiatría: ¿descubrimiento, construcción o descubrimiento + construcción? El “caso” de la depresión

Silvia Wikinski¹

1. Médica especialista en Psiquiatría. Investigadora Principal del CONICET. Profesora de la 1era. Cátedra de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UBA.

E-mail: silviawikinski@gmail.com

Resumen

El presente trabajo resume los esfuerzos realizados en los últimos veinte años para descubrir la fisiopatogenia de las enfermedades mentales. Toma como “caso” la depresión mayor y repasa las distintas teorías que emergieron a partir del estudio de los aminoácidos excitatorios, los glucocorticoides, los factores neurotróficos en los años '90, la neurogénesis a principios del siglo XXI y la genética, la epigenética y el estudio de las redes neuronales en los últimos años. Propone que el resultado es una construcción que tiene a la vez la fortaleza de las evidencias a partir de las cuales se edifica y la debilidad del reduccionismo al que se debe recurrir para obtenerlas.

Palabras clave: Fisiopatogenia de las enfermedades mentales - Epistemología de la Psiquiatría - Biología de la depresión.

PHYSIOPATHOGENY IN PSYCHIATRY: DISCOVERY, CONSTRUCTION OR DISCOVERY PLUS CONSTRUCTION? THE “CASE” OF DEPRESSION

Abstract

This work summarizes the efforts made in the last twenty years towards the discovery of the physiopathogeny of mental diseases. It takes the “case” of major depression and reviews the different theories proposed to explain its physiopathogeny beginning with the role of excitatory aminoacids, glucocorticoids and trophic neurofactors in the '90s, the neurogenesis at the beginning of '00s and the genetics, the epigenetics and the research on neural networks in the last years. Result of these scientific efforts seem to be a construction which has at the same time the strength of the evidences employed in its building and the weakness that emerges from the reductionism necessary to obtain them.

Keywords: Physiopathogeny of mental illnesses - Epistemology of Psychiatry - Biology of major depression.

Este artículo fue publicado por primera vez en *Vertex, Revista Argentina de Psiquiatría* 2011, XXII (100): 444-453. Se reproduce aquí su versión original revisada por la autora.

La inclusión de la Psiquiatría dentro del campo de la Medicina no viene resultando fácil. La secuencia habitual del pensamiento médico, heredera de la infectología o de la clínica médica, en la que de la anamnesis se desprenden hipótesis etio o fisiopatogénicas que llevan a la realización de pruebas que confirman o desmienten el diagnóstico, preferentemente etiológico y que a su vez guían un tratamiento específico resultó hasta ahora esquiva para la Psiquiatría.

Sin embargo, no nos damos por vencidos. Este trabajo resume los esfuerzos realizados en los últimos 20 años para elaborar un cuerpo de conocimientos acerca de la fisiopatogenia de las enfermedades mentales. Toma como "caso" la depresión, pero creo que el recorrido seguido en el estudio de otras enfermedades, como por ejemplo la esquizofrenia, no ha sido conceptualmente distinto. Por lo tanto me propongo dos objetivos: por un lado mostrar de qué elementos se han valido los investigadores para construir las hipótesis fisiopatogénicas de las enfermedades mentales y por el otro exponer los avances y vacilaciones en el estudio de la fisiopatogenia de la depresión, haciendo foco en la depresión unipolar que es para la que se cuenta con mayor densidad de información. La tesis central de esta contribución es que, en tanto construcción social e histórica, la ciencia y sus aportes dependen de los paradigmas, las tecnologías y las prioridades de cada etapa histórica.

Las estrellas de los '90: un héroe, el factor neurotrófico derivado del cerebro, y dos villanos, el glutamato y los glucocorticoides

Tomemos los principios de los años '90 como punto de partida para este *racconto*. En ese tiempo la hipótesis monoaminérgica, nacida como resultado del descubrimiento serendípico de los antidepresivos y de lo que (luego se supo) era sólo uno de sus mecanismos de acción, la inhibición de recaptación de monoaminas, había mostrado sus insuficiencias. Paralelamente dos descubrimientos relativamente recientes comenzaban a aplicarse al estudio de la depresión. Por un lado, la investigación acerca de los neurotransmisores, que se había centrado en las monoaminas hasta ese momento, recaló en los aminoácidos, particularmente el glutamato, cuyos efectos neurotóxicos comenzaban a ser identificados. Por el otro, el descubrimiento de Rita Levi-Montalcini del factor de crecimiento nervioso o NGF (por *nerve growth factor*) realizado a mediados del siglo XX había llevado a la búsqueda e identificación de otros factores neurotróficos. En los años '90 se comenzaba a investigar el factor neurotrófico derivado del cerebro, o BDNF por sus siglas en inglés (*brain derived neurotrophic factor*).

¿Por qué el interés en el glutamato como posible participante de la etiopatogenia de la depresión? Como decíamos, en la última década del siglo XX se había determinado que el glutamato, además de participar en la neurotransmisión convencional, reunía otras dos propiedades: protagonizaba fenómenos de plasticidad neuronal como los que se ponen en marcha para

la adquisición de algunas formas de memoria (1, 2) y producía efectos tóxicos, induciendo la muerte neuronal o el podado de las terminaciones dendríticas. Unos años antes, en los '80, se había comenzado a aplicar la resonancia magnética nuclear para obtener imágenes cerebrales (3) y hacia fines de esa década comenzaron a publicarse los primeros trabajos que señalaban una disminución del volumen en áreas temporales en general y del hipocampo en particular en los cerebros de pacientes con trastornos afectivos primarios en comparación con controles sanos (4, 5). Dado que a dichas áreas se les adjudica un papel importante en la modulación afectiva, la reducción de su volumen podía estar relacionada con su alteración funcional. Los investigadores se preguntaron qué podría estar ocasionando esta reducción del volumen y montada sobre la ola del efecto tóxico del glutamato surgió la teoría de un efecto tóxico de este neurotransmisor, la que halló comprobación empírica en manos de varios grupos de investigación (6, 7).

Una vez puestas en evidencia estas cuestiones, quedaba por investigar si los antidepresivos atenuaban o revertían el efecto mediado por glutamato. El grupo de Skolnick demostró que tanto el tratamiento crónico con imipramina como el shock electroconvulsivo, administrados a ratas, producían una respuesta adaptativa del receptor glutamatérgico NMDA, y que el tratamiento con bloqueantes de este receptor tenía propiedades antidepresivas (8).

En paralelo varios grupos de investigación trabajaban sobre la hipótesis de que la depresión era consecuencia del estrés severo y/o crónico. No faltaban evidencias para sostener esta propuesta. Es sabido que quienes peor manejan la angustia y el estrés están más en riesgo de sufrir depresión (9) y que los pacientes con hipercortisolismo como por ejemplo los que sufren la enfermedad de Cushing muy frecuentemente están aquejados de alteraciones afectivas. Entonces, encontrar los mecanismos que mediaban la relación entre estrés y depresión, o entre estrés y alteraciones del trofismo del hipocampo, que para entonces eran prácticamente equivalentes, resultaba relevante.

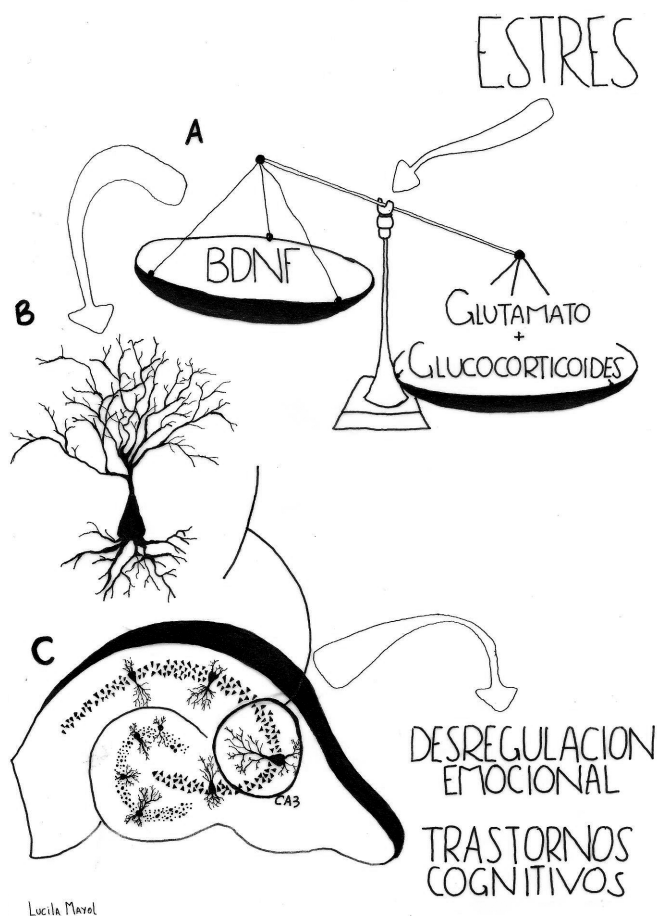
La estrategia empleada casi sin variación fue administrar glucocorticoides o exponer a animales de experimentación a estrés y estudiar diversos parámetros del funcionamiento, el trofismo y la neurotransmisión de áreas cerebrales específicas, entre las que el hipocampo era la preferida. En nuestro laboratorio demostramos, al igual que otros autores, que la administración crónica de glucocorticoides produce una disminución de las ramificaciones dendríticas de neuronas del hipocampo y un déficit en la adquisición de una tarea aversiva (10). Como por otro lado se demostró que los glucocorticoides potenciaban la acción dañina del glutamato, parecía redondearse un panorama en el que los glucocorticoides y el glutamato, ambos liberados ante situaciones de estrés, inducían daño neuronal (muerte o poda dendrítica) (11, 12) que conducía a la reducción de volumen del hipocampo y sus consecuencias conductuales y afectivas: desregulación emocional y alteraciones cognitivas

En nuestro laboratorio obtuvimos resultados emparejados con estas evidencias (13). Demostramos que la administración de antagonistas glutamatergicos antes de la exposición de animales de experimentación a una situación de estrés severo previene el efecto dañino del glutamato sobre proteínas del citoesqueleto de neuronas hipocámpales. Como el citoesqueleto es el responsable de mantener la forma celular, nuestros resultados indican que efectivamente hay un aumento de glutamato durante el estrés, y que por otro lado participa de forma crítica en una alteración que conlleva a alteraciones en la morfología de las neuronas del hipocampo.

En otro vecindario se revisaba el papel del BDNF. Este factor neurotrófico promueve la formación de conexiones sinápticas y previene la muerte neuronal (14, 15, 16), motivo por el cual resultaba lógico que se exploraran posibles modificaciones en la depresión, una condición en la que el trofismo y la supervivencia neuronal, como

vimos, estaban afectados. Se pudo demostrar que la disminución de BDNF estaba asociada a las alteraciones tróficas halladas en el hipocampo de animales expuestos a modelos experimentales de depresión y tiempo después estos resultados se confirmaron en los hipocámpos de personas deprimidas que habían cometido suicidio (17, 18). Dos datos más eran necesarios y se obtuvieron: el BDNF tiene propiedades que semejan a los antidepresivos en animales de experimentación (19), y los antidepresivos incrementan la expresión de BDNF tanto en animales como en pacientes (20, 21). En resumen, para fines de los '90 las hipótesis en danza proponían que el glutamato, asociado o no a los glucocorticoides, promueve una disminución del trofismo y eventualmente la muerte de neuronas del hipocampo, lo que se correlaciona con la disminución del volumen de esta estructura en el cerebro de pacientes deprimidos. El BDNF tendría un papel reparador (Figura 1).

Figura 1. Balance entre el efecto tóxico de glutamato y de glucocorticoides y el efecto trófico de BDNF sobre las neuronas y su relación con el volumen del hipocampo. Posible relación con los síntomas de la depresión.



La exposición a estrés produce un desbalance entre glutamato y glucocorticoides por un lado y BDNF por el otro (A) que favorece la muerte o la atrofia de las dendritas apicales de las neuronas piramidales del área CA3 del hipocampo (B). Como resultado, el volumen de esta estructura se vería disminuido (C) tal como lo muestran los estudios de resonancia magnética funcional en pacientes que sufren depresión. Como el hipocampo es un área del sistema límbico que participa en la regulación emocional y en el funcionamiento cognitivo, este proceso explicaría las alteraciones afectivas y cognitivas presentes en la depresión.

A caballo entre dos siglos: el papel de la neurogénesis

Heredera de los aportes de Elizabeth Gould, quien en los '90 había demostrado que en algunas zonas del cerebro continuaban generándose nuevas neuronas a partir de células madre, y vinculada con la importancia que habían tenido hasta entonces los factores neurotróficos, nació lo que se dio en llamar la hipótesis neurogénica de la depresión.

Gould había identificado dos regiones cerebrales en las cuales había células madre que daban lugar a nuevas neuronas: la zona subventricular y el giro dentado. Esta última es parte del hipocampo, un área que como ya vimos está estrechamente vinculada con la respuesta al estrés y la modulación del tono afectivo. A tono con la época, se demostró que los glucocorticoides y los aminoácidos excitatorios, sindicados como factores patógenos en la depresión, eran capaces de ejercer un efecto regulatorio negativo sobre la neurogénesis (22, 23). Por otro lado, diversas hormonas, la experiencia, el ejercicio físico o el estímulo ambiental tenían un efecto regulatorio positivo (24). Era razonable formular la hipótesis de que en la depresión la neurogénesis estaba perturbada, o que habría un balance desfavorable entre neurogénesis y muerte neuronal.

En efecto, se estudió la neurogénesis en diversas circunstancias que sirven de modelo experimental de depresión, y así fue como se documentó que la exposición a estrés o la depleción de serotonina se acompañan de una disminución de la neurogénesis (25, 26). También se comprobó que los antidepresivos administrados en forma prolongada la aumentaban (27, 28, 29).

La hipótesis neurogénica de la depresión no cuenta con apoyo unánime, ya que algunos experimentos dieron resultados contradictorios. Para poder afirmar que la neurogénesis era la *responsable* del efecto de los antidepresivos había que probar que el tratamiento farmacológico no es eficaz cuando ésta está bloqueada. Hay varias maneras de bloquear la neurogénesis. Una de ellas consiste en irradiar el hipocampo de animales de experimentación, lo que inhibe la capacidad de las células madre para diferenciarse en neuronas. Si a animales irradiados se les administra un antidepresivo, éste podrá ejercer todos sus efectos *menos* el neurogénico. Seguimos con el razonamiento: si estos animales tienen alteraciones conductuales compatibles con un modelo experimental de depresión, podremos observar si la alteración conductual se corrige por acción del antidepresivo *independientemente* de la neurogénesis. Este experimento, realizado por varios grupos de investigación que trabajan con modelos de depresión en roedores, dio resultados contradictorios. Algunos autores, demostraron que el efecto conductual de la fluoxetina requiere de la neurogénesis (30), mientras que otros observaron que era independiente de la misma (31). Nosotros, trabajando con ratas en un modelo de desesperanza que mimetiza varias características conductuales de la depresión en humanos, observamos que un procedimiento capaz de corregir las fallas conductuales, y

que sí aumenta la neurogénesis en animales control, no la modificaba en el grupo experimental (32).

Según señalan Pechnick y Chesnokova (33) la neurogénesis en el adulto es un fenómeno en busca de una función. ¿Participa en el desarrollo de la depresión o en la acción de los antidepresivos? ¿Se vincula con el aprendizaje y la memoria? ¿Qué lugar tiene en la reparación posterior al daño?

Resulta interesante señalar que aun cuando la neurogénesis pueda estar aumentada bajo tratamiento con antidepresivos, y aún más, que fuera necesaria para que se exprese el efecto conductual de las drogas, esto no nos autoriza a concluir que es un defecto de la neurogénesis lo que sucede en la depresión. Bien podría ser que la neurogénesis sea una forma de reparar daños producidos por otros mecanismos (34).

Principios del siglo XXI: la genética molecular y las neuroimágenes funcionales a la caza de la fisiopatología de la depresión

No puedo referirme a los avances en estos últimos diez años sin una breve mención a las discusiones que tenían, y aún tienen lugar, en el campo clínico. En la primera década de este siglo cobró gran envergadura la polémica nosográfica en Psiquiatría. Con respecto a los trastornos afectivos, las tensiones actuales, ya presentes hace 10 años, se dirimen entre incluir a la depresión recurrente dentro del diagnóstico de trastorno bipolar o mantenerla como entidad autónoma. No se le escapará al lector que esta polémica tiene profundas repercusiones en la investigación sobre la fisiopatología de la depresión. Es muy probable que dentro de un fenotipo psicopatológico similar (como sería la depresión unipolar) se hallen muy distintos recorridos patógenos. Este es el entorno clínico en el que se desarrollaron y aún se desarrollan los estudios acerca de la fisiopatología de la depresión. Si las estrellas de los '90 eran los neurotransmisores (particularmente el glutamato) y los factores neurotróficos, y entre el siglo XX y el XXI lo era la neurogénesis, la estrella de la primera década de los 2000 fue la genética. En lo que va del siglo la manipulación genética fue la gran herramienta. Podemos secuenciar genes y detectar polimorfismos, excluirlos en un animal para ver qué funciones se alteran, potenciarlos para ver qué funciones se incrementan, analizar el genoma de pacientes y compararlo con controles para ver cuáles son las modificaciones genéticas que se asocian con determinada patología, estudiar qué factores potencian

o silencian la expresión genética, y estudiar el camino que va desde la expresión genética a la síntesis proteica. El empeño puesto en las investigaciones genéticas tuvo su acmé de escala mundial en la secuenciación del genoma humano, que concluyó a principios de siglo (35).

Por otro lado las técnicas funcionales de diagnóstico por imágenes, que se habían inaugurado a mediados de los '90 con la tomografía computada acoplada a la emisión de fotones individuales o SPECT, por sus siglas en inglés (*single photo emission computed tomography*), se perfeccionaron significativamente y escalaron a méto-

dos como la tomografía por emisión de positrones o PET (por *positron emission tomography*) -considerada como el avance biotecnológico del año 2000 por la revista norteamericana *Time*- y la resonancia magnética funcional.

Los avances en biología y genética molecular y las nuevas tecnologías de neuroimágenes permitieron formular y poner a prueba hipótesis genéticas y del funcionamiento del cerebro con las que los científicos continuaron intentando capturar la etiopatología de la depresión. ¿Cuáles fueron los resultados que podemos contabilizar hasta hoy en día?

De la genética a la epigenética

Si bien hay cierta agregación familiar en la depresión, esta enfermedad dista de respetar las leyes mendelianas de la herencia. Por tal motivo, el estudio de pedigrés con muchos miembros afectados no ha sido, ni parece que lo vaya a ser en el futuro, la principal estrategia para investigar la etiopatología de la depresión. En los pocos estudios de familias en los que muchos miembros se hallan afectados por el síndrome se observaron altos índices de comorbilidades, con lo que la asociación entre patrones genéticos y síndromes clínicos se desdibuja. Por lo tanto, en qué medida los hallazgos de estos *pedigrés* eran específicos de la depresión o señalaban una diátesis genética a favor de un espectro de alteraciones afectivas queda aún por investigar [ver revisión (36)].

Otras dos estrategias prometen proporcionar resultados más consistentes: los estudios de asociación genética y los estudios de mapeo del genoma completo.

Los estudios de asociación genética consisten en comparar la frecuencia con que se presenta determinado polimorfismo (cambios en la secuencia o en el número de copias de determinado gen) en un grupo de pacientes afectados de depresión con respecto a otro considerado control (personas no afectadas por depresión). Para poder realizar estos estudios comparativos, obviamente se debe contar con genes candidatos. ¿Cómo se establecen estos genes? La elección de un gen candidato surge de las hipótesis fisiopatológicas o etiológicas de la depresión ya disponibles. Por ejemplo los genes candidatos estudiados hasta el momento son los que codifican para monoaminas, para factores neurotróficos, para mediadores de la respuesta neuroendócrina al estrés o para las moléculas en las que actúan las drogas antidepressivas como los transportadores de serotonina. No se le escapará al lector, entonces, que los estudios de asociación no proponen nuevas hipótesis fisiopatológicas, sino que investigan la heredabilidad de las que ya se han postulado.

¿Qué resultados han brindado hasta ahora los estudios de asociación? López-León publicó recientemente

un metanálisis en el que recoge 183 investigaciones referidas a 393 polimorfismos en 102 genes (37). Sólo 22 de los polimorfismos fueron examinados por tres o más investigadores. En este contexto la evidencia más fuerte a favor de un polimorfismo fue para la apolipoproteína E, seguida con menor nivel de evidencia para las variantes del transportador de serotonina (sitio de acción de los inhibidores de la recaptación de esta monoamina) y para la enzima metil-tetrahidro-folato reductasa¹. Curiosamente, López-León no halló una asociación fuerte entre depresión y polimorfismos en los genes que codifican para las distintas variantes del BDNF o para la enzima limitante de la síntesis de serotonina, la triptofano hidroxilasa.

Paralelamente a las técnicas de asociación se desarrollaron las técnicas de mapeo del genoma completo también llamados estudios pangenómicos a través de los cuales se puede tanto identificar un polimorfismo genético particular como hallar nuevos genes candidatos. Esta técnica consiste en extraer el ADN de pacientes y controles sanos y colocarlo en dispositivos llamados *chips* en los que se pueden leer miles o millones de secuencias de ADN mediante computadora. Empleando bioinformática se comparan las variaciones en las secuencias halladas entre casos y controles (si se está buscando alguna asociación genética para la enfermedad) o entre familiares cercanos (si se está buscando heredabilidad). Si la variación genética es más frecuente en los afectados que en los controles se establece que hay una asociación entre la enfermedad y dicha variación.

Los estudios pangenómicos permiten determinar polimorfismos hasta de un solo nucleótido en la secuencia de un gen (*single nucleotide polymorphism* o *SNP*). Hasta abril de 2010 se habían publicado alrededor de 450 estudios de análisis pangenómico, mediante los cuales se han identificado alrededor de 2000 SNP. Las enfermedades estudiadas, todas ellas consideradas de origen poligénico, son variadas e incluyen la hipertensión arterial, el trastorno bipolar, la esquizofrenia y la depresión. Sin embargo, salvo para una patología oftalmológica, la degeneración macular asociada con la edad, que fue el primer hallazgo exitoso obtenido con esta técnica y en la que se encontró una fuerte asociación entre un polimorfismo y la enfermedad, para el resto de las modificaciones el riesgo relativo es bastante bajo (alrededor de 1.5)² (8).

En una búsqueda bibliográfica actual cruzando los términos *estudios pangenómicos* (*genome wide analysis*) y *depresión mayor* y excluyendo *trastorno bipolar*, surgieron 34 estudios. Los estudios pangenómicos buscan contestar la pregunta ¿qué combinación de genes o de polimorfismos genéticos predisponen a la depresión? Otra pregunta relevante es ¿qué condiciones del medioambiente favorecen la expresión de los genes eventualmente implicados?

1- Esta enzima cataliza la conversión de 5,10-methylenetetrahydrofolato a 5-methyltetrahydrofolato, un co-sustrato para la remetilación de homocisteína a metionina. Las personas con deficiencia severa en esta enzima tienen altos niveles de homocisteína en sangre y alteraciones en la disponibilidad de la vitamina B9, también llamada folato. La ausencia de folato, sobre todo durante la gestación puede producir alteraciones cromosómicas, como por ejemplo el síndrome de Down o congénitas, como fallas en el cierre del tubo neural. Se han detectado polimorfismos en esta enzima asociados a la depresión y a otras enfermedades mentales, pero estos resultados por el momento son preliminares (Ver por ejemplo Peerbooms OL y cols. *Brain Behav Immun* 2010; Gaysina D y cols., *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; 147B (6): 699-706, entre otros).

2- Recomiendo a los interesados en la perspectiva genética revisar la muy prolífica producción de Kenneth Kendler, quien desde una experiencia muy intensa puede destacar los alcances y limitaciones de las estrategias genéticas para comprender las enfermedades mentales.

Los esfuerzos por responder esta pregunta forman parte del campo de la epigenética.

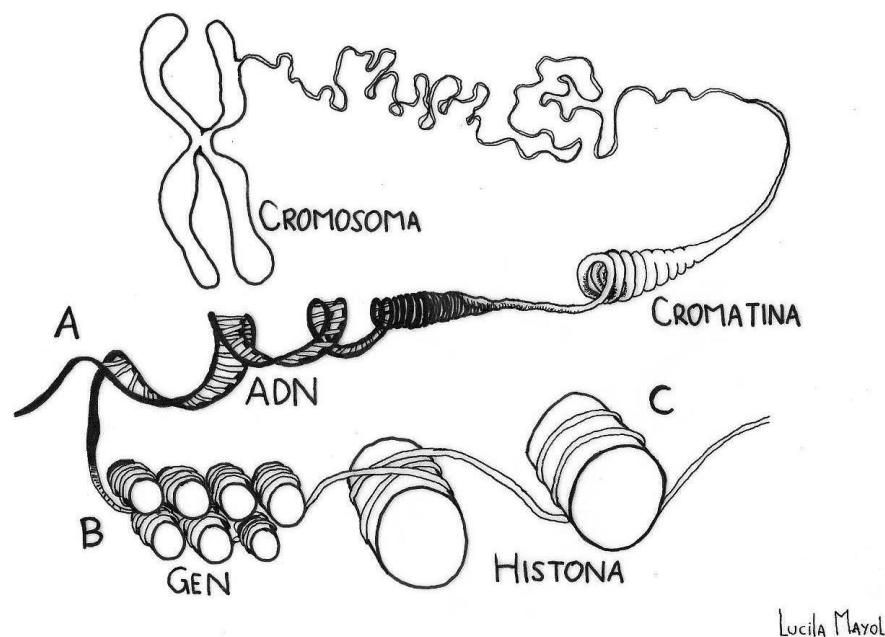
Desde hace muchos años se sabe que los patrones genéticos no hallan igual expresión en distintos contextos ambientales. Esto es evidente. Si no ¿cómo nos explicamos que el mismo genoma dé lugar a la síntesis de dopamina en una neurona y a la de insulina en una célula del islote de Langerhans? La epigenética se dedica a investigar los procesos por los cuales los estímulos del micro o del macroambiente modulan la expresión génica.

Para explicar este punto permítaseme una breve digresión ilustrada por la Figura 2. El genoma se halla empaquetado dentro del núcleo celular formando los cromosomas. Para que la secuencia completa de ADN entre dentro de estos componentes nucleares es necesario un superenrollamiento. Pero por otro lado, para que sea posible la expresión de los genes codificados en el ADN es necesaria la unión de factores de transcripción a sus sitios promotores, la que no puede llevarse a cabo en el estado de enrollamiento en que se encuentra el ADN en condición de reposo. Por lo tanto, en cada célula y de acuerdo a distintos estímulos ambientales debe haber un estado dinámico de enrollamiento/ desenrollamiento de la cromatina contenida en los cromosomas que permita la unión de factores de transcripción (y la consecuente expresión génica) o el silenciamiento de los genes. Esta dinámica está regulada por dos mecanismos: cambios en el estado

de metilación o fosforilación del ADN propiamente dicho o por la unión de unas proteínas llamadas histonas a los sitios promotores de los genes. Las histonas también sufren modificaciones (fosforilación, acetilación, metilación u otras) que hacen más laxo o más firme este enrollamiento, facilitando o dificultando la transcripción. Las modificaciones de las histonas están catalizadas por enzimas (metilasas, dimetilasas, acetilasas, desacetilasas, etc.) que a su vez responden a señales intra o extracelulares. Recapitulando lo dicho hasta aquí, los distintos mecanismos que dan por resultado cambios en la expresión de genes serían polimorfismos en la secuencia de las bases que los conforman, cambios en el número de copias de que dispone determinado individuo, o cambios en el estado de empaquetamiento o enrollamiento de la cromatina (regulados por las modificaciones en el ADN o las histonas) que dan lugar a una mayor o menor transcripción. Los dos primeros mecanismos son constitutivos, el último es dinámico y responde a señales del medioambiente.

En los últimos años el grupo de Eric Nestler informó acerca de cambios en el estado de empaquetamiento de la cromatina en el núcleo accumbens y en el hipocampo de ratones expuestos a un modelo experimental de depresión. También demostró que el tratamiento crónico (pero no el agudo) con imipramina revierte dichos cambios (39, 40). En la misma línea, el grupo de McEwen demostró que el estrés agudo por restricción, otro modelo

Figura 2. Del cromosoma a la expresión génica.



El ADN contenido en los cromosomas se encuentra en un estado de superenrollamiento. Para que la expresión de genes sea posible se requiere que la cromatina exponga los sitios promotores de los genes. La cromatina se encuentra enrollada alrededor de las histonas (B). Según la modificación de las histonas (metilación, acetilación, fosforilación, etc.) estas tienen uniones más laxas o más firmes con el ADN, facilitando o dificultando la expresión génica. Cuando el ADN se desenrolla (C) en las zonas promotoras se unen los factores de transcripción, lo que da lugar al proceso de expresión génica.

de depresión, produce en el hipocampo de rata estados de metilación de la histona distintos a los observados como consecuencia de la exposición a estrés subcrónico. Estos cambios son tiempo y región dependientes (dentro del hipocampo) y se bloquean con la administración concomitante del antidepresivo fluoxetina (41). En apoyo a esta lógica que asocia conductas símil depresivas con alteraciones en el estado de empaquetamiento de la cromatina el grupo de Nestler demostró la participación de una de las isoformas de la histona desacetilasa, la que como vimos al estar activa indicaría una cromatina más compacta y más reprimida (42, 43).

En conjunto, estas evidencias ponen de manifiesto que tanto el estrés asociado a una conducta símil depresiva como el tratamiento con antidepresivos regulan la expresión de genes a través de modificaciones en la metilación o la acetilación de las histonas asociadas a los sitios regulatorios de la transcripción. Resulta interesante destacar que algunas drogas con propiedades antirrecurrentes, como por ejemplo el ácido valproico, cuentan entre sus mecanismos de acción la inhibición de la histona desacetilasa. Estos resultados son muy recientes, y la pregunta que nos hacemos, entre muchas otras, es cuál es el camino por el que un evento estresante es capaz de activar o inhibir enzimas que modifican las histonas.

De las "áreas críticas para la depresión" a la complejidad de las redes neuronales

La depresión es un fenómeno clínico complejo que se expresa a través de cambios en el estado de ánimo, alteraciones cognitivas, anhedonia, culpa, desesperanza y alteraciones motoras y viscerales. Su desarrollo y perpetuación, como los de tantos otros fenómenos humanos, depende de una red neuronal amplia en la que participan regiones corticales y subcorticales. Los estudios funcionales realizados en pacientes deprimidos así lo documentan.

Una red neuronal muy estudiada es la formada por áreas prefrontales y límbicas y sus circuitos de interconexión. Las áreas anatómicas comprendidas son la corteza prefrontales ventromedial, lateral orbital y dorso-lateral, las cortezas cinguladas, el núcleo accumbens, la amígdala y el hipocampo. Empleando neuroimágenes se han descrito alteraciones de flujo cerebral³ en estas áreas en pacientes con depresión mayor en comparación con controles.

Llamamos la atención acerca de que estas diferencias no resultan significativas a nivel individual sino a nivel poblacional y por lo tanto no se pueden ni deben emplear las neuroimágenes como estrategias diagnósticas.

Veamos un poco más en detalle estos circuitos. Mayberg y cols. (44) así como otros investigadores (45, 46, 47) han empleado neuroimágenes funcionales para estudiar la respuesta de estas estructuras a distintos estímulos en pacientes con depresión. Se han construido varios modelos.

Con distintos argumentos y tipos de evidencia uno de los razonamientos que emerge es que podrían diferenciarse relaciones recíprocas entre dos grupos de circuitos: por un lado los que sostienen funciones atencionales, cognitivas y de respuesta a reforzadores positivos, constituida por áreas del sistema límbico (accumbens dorsal y ventral y las cortezas prefrontales dorsolaterales, lateral orbital y medial) y por el otro la red involucrada en la respuesta al estrés (o red de afectos negativos) de la que participarían la amígdala, el lóbulo de la ínsula, el estriado ventral, el núcleo basal de la estría terminal y el núcleo paraventricular del hipotálamo (48). Hay cierto consenso en que en la depresión habría un reforzamiento de las conexiones *intrínsecas* de cada uno de estos grupos y además un desbalance *entre* ambos grupos de circuitos, que llevaría a un predominio de la red de afectos negativos (49). Esto podría deberse a que la red motivacional positiva no puede sostener su actividad en el tiempo (50), a que la red de afectos negativos tiene aumentado su funcionamiento (51, 52) o a que las relaciones recíprocas entre ambas están perturbadas (53, 54). El hipocampo se encontraría en la intersección entre ambas redes, modulando entre otras, la respuesta neuroendocrina al estrés por parte del hipotálamo. En la Figura 3 se esquematiza esta hipótesis.

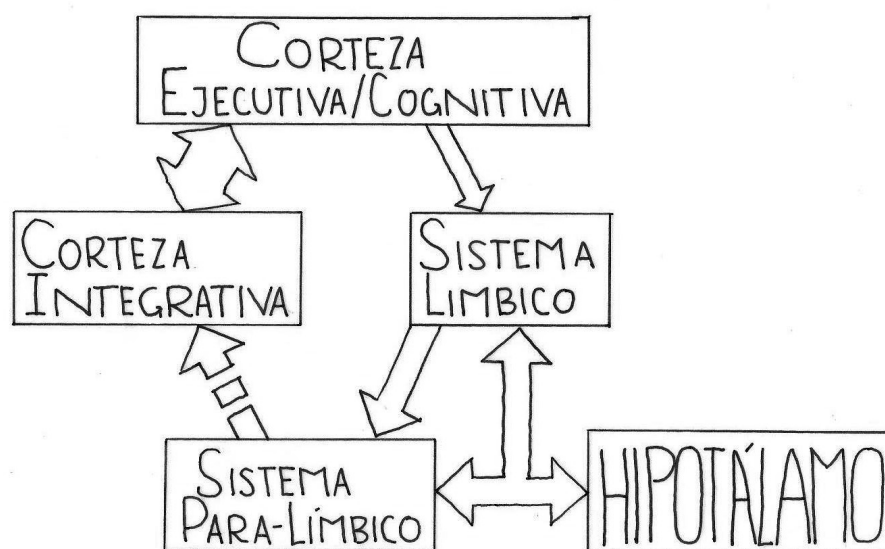
Reflexiones finales

No podía ser de otro modo. Los estudios acerca de la fisiopatogenia de la depresión han venido complejizándose progresivamente. Las hipótesis que proponían "1 neurotransmisor = 1 enfermedad" no alcanzaron. Tampoco lo hicieron las que postulaban "1 gen = 1 enfermedad". Hoy en día la depresión es considerada una enfermedad poli-génica, con distintos genes afectando de distinta manera diversos grupos de neuronas y a su vez siendo afectados de distinto modo por el medio ambiente y la experiencia.

La revisión hecha en este trabajo muestra cierta regularidad en las estrategias empleadas por los investigadores. Una de las estrategias tiene como punto de partida la acción de los psicofármacos, que por otro lado debemos recordar que no resultan eficaces para todos los pacientes que sufren depresión. Empleando éstos en animales de experimentación, expuestos o no a un modelo de la enfermedad, se investigan los que vienen siendo los paradigmas de la neurobiología de cada etapa: los aminoácidos excitatorios, los factores neurotróficos, la neurogénesis, la genética o la epigenética. La biología general comunica avances, y los investigadores buscan ver de qué modo éstos están implicados en la patología. En todos los casos, los resultados son positivos. Es decir, casi sin excepción, se comprueban las hipótesis puestas en discusión. Entonces resulta que en los modelos experimentales de depresión el glutamato, el BDNF, la neurogénesis y la epigenética están comprometidos y que los antidepresivos previenen o revierten las alteraciones.

3- En las imágenes funcionales las alteraciones del flujo reflejan alteraciones en la intensidad de actividad del área en cuestión.

Figura 3. Esquema que muestra una de las teorías fisiopatogénicas de la depresión apoyada en el funcionamiento anómalo de redes neuronales.



Lucila Marol

Las corteza integrativa (formada por las cortezas prefrontales lateral orbital, rostral y medial) en relación con la corteza cognitiva/ejecutiva (formada por la corteza prefrontal dorsolateral y el cíngulo anterior) formarían parte de una red de afectos positivos y de funciones cognitivas. Por otro lado, las zonas subcorticales, especialmente el sistema límbico (formado por la amígdala, el lóbulo de la ínsula, el estriado ventral) en relación con el núcleo paraventricular del hipotálamo, el accumbens ventral y la corteza prefrontal ventral medial formarían parte de una red que responde al estrés y a los afectos negativos. La hipótesis sostiene que la capacidad regulatoria entre la red de afectos positivos y la de afectos negativos o de respuesta al estrés es disfuncional, ya sea porque las vías de conexión no funcionan adecuadamente, porque hay un aumento de la actividad en la segunda o una disminución persistente de la actividad en la primera.

Podríamos arriesgar que lo que sucede es que el cerebro es un órgano tan plástico que casi cualquier procedimiento, conductual o farmacológico, va a producir efectos en los distintos niveles en que se investiguen. Esto no debería resultarnos descorazonador, pero sí debería alertarnos acerca de un entusiasmo excesivo a la hora de "cerrar" la oferta de hipótesis.

La otra estrategia consiste en emplear los avances tecnológicos disponibles en genética o en neuroimágenes para estudiar pacientes. En este caso nuestro Aquiles no tiene uno sino al menos dos talones: por un lado la discusión nosográfica y por el otro el hecho de que los estudios genéticos aplicados a seres humanos sólo pueden acercarse a patrones más bien constitutivos, ya que los aspectos epigenéticos, que como vimos son tejido y circunstancia dependientes (afectan a grupos neuronales específicos en condiciones también específicas), por ahora resultan inaccesibles al investigador.

Esto, como decíamos al principio, nos fuerza a construir, con los ladrillos de los descubrimientos, una o varias hipótesis acerca de la fisiopatogenia. No podemos decir que sólo sea una construcción, porque en parte las evidencias están disponibles. Pero éstas nunca son directas. Más bien provienen de un conjunto heterogéneo de suposiciones y paradigmas "a priori" (modelos experimentales, clasificación nosográfica, limitaciones técnicas, etc.).

Una película ya vieja recogía la historia del descubrimiento de cómo se transmitía la sepsis puerperal.

Al principio de la película Ignaz Semmelweis, quien después sería el descubridor de la forma de contagio, daba una clase a estudiantes de Medicina. Con el tono doctoral con el que suelen darse las clases, especialmente de Medicina, explicaba que la sepsis puerperal era consecuencia de la diátesis de miasma desde el útero al resto del cuerpo. Siempre tengo presente esa escena cuando pienso en las teorías que hoy exponemos. Por lo tanto pido al lector que, si tiene paciencia, relea este trabajo, evitando todo lo posible el tono doctoral. El futuro dirá.

Agradecimientos

Agradezco a los Dres. Santiago Levin y Martín Nemirvosky y a la Lic. Georgina Fernández Macedo por la lectura y los aportes críticos a este trabajo. Agradezco también a Lucila Mayol por la realización de las ilustraciones que sirven de soporte didáctico. SW recibe sueldos de la Universidad de Buenos Aires, del CONICET y participa de un convenio de asesoría entre Proyecto Suma y el CONICET. Los subsidios que permitieron las investigaciones que se citan fueron proporcionados por la UBA (M073), el CONICET (PIP 5870 y 11420090100308) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Ministerio de Ciencia, Investigación e Innovación Productiva, Argentina) (PICT 31953). ■

Cuadro 1. ¿Modelos experimentales de depresión?

El empleo de modelos experimentales de las enfermedades humanas permite investigar hipótesis etio o fisiopatológicas y anticipar o poner a prueba la potencial eficacia de tratamientos farmacológicos o quirúrgicos. La validez de estos recursos en un sentido muy amplio se fundamenta en que, en tanto herederos de una misma primera célula, todos los seres vivos que habitan la Tierra comparten mecanismos básicos a nivel celular. En este nivel, y desde este punto de vista, son más las semejanzas que las diferencias entre un ratón y un ser humano. Sin embargo, cuando buscamos investigar modos de organización más complejos que el estrictamente celular debemos ser prudentes. Este es el caso de la investigación acerca de la neurobiología de las enfermedades mentales, las que aún más que otras patologías humanas resultan tanto de sustratos biológicos como de los efectos que sobre estos tienen las experiencias personales y los fenómenos sociales y culturales. Para el estudio de la depresión contamos con varios modelos experimentales que han sido validados por su reproducibilidad entre laboratorios, por su semejanza aparente con las características conductuales o neurobiológicas que presenta la depresión en el ser humano, y por el efecto que sobre ellos tienen los antidepresivos. Sirven para responder preguntas concretas acerca de patrones biológicos o de respuesta a drogas pero son radicalmente distintos a la depresión como la conocemos en el consultorio. Son una expresión más del reduccionismo que exige la investigación para abrirse paso en la búsqueda del conocimiento. Los modelos experimentales de depresión más difundidos son los que resultan de someter a animales, generalmente roedores, a distintas situaciones de estrés severo o prolongado. Bajo estas circunstancias se pueden detectar alteraciones conductuales o neurobiológicas que guardan semejanza aparente con las halladas en personas deprimidas. Los antidepresivos suelen revertir estos efectos del estrés, con lo que la validez parece confirmarse. Entre otras, las distintas situaciones de estrés ensayadas son la inclusión de un intruso de la misma especie en la jaula en la que ya está establecida una determinada colonia de animales (estrés por desafío social); estímulos molestos o incluso dolorosos de los cuales el animal no puede escapar (estrés inescapable), pequeñas incomodidades como por ejemplo restricción de la provisión de la comida o el agua por algunas horas, suciedad en la jaula, luces encendidas fuera del horario habitual, etc. a lo largo de varias semanas (estrés crónico moderado); restricción de la capacidad de moverse (estrés por restricción de movimiento). En muchos de estos modelos se pueden cuantificar las consecuencias conductuales: disminución de la apetencia por soluciones dulces (altamente palatables para los roedores) que se interpreta como una señal de anhedonia, fallas en el escape de una situación aversiva a pesar de tener la posibilidad de hacerlo que se interpreta como desesperanza, etc. En general, los antidepresivos administrados por varias semanas corrigen estas consecuencias conductuales. Forma parte de la prueba de especificidad del modelo el que esta corrección no sea obtenida con otros psicofármacos como por ejemplo ansiolíticos o antipsicóticos.

Referencias bibliográficas

- Rickard NS, Poot AC, Gibbs ME, Ng KT. Both non-NMDA and NMDA glutamate receptors are necessary for memory-consolidation in the day-old chick. *Behav Neural Biol* 1994; 62 (1): 33-40.
- Wikinski SI, Acosta GB. Papel de los aminoácidos excitatorios en la neuropatología. *Medicina (B Aires)* 1995; 55 (4): 355-65.
- Doyle FH, Gore JC, Pennock JM, Bydder GM, Orr JS, Steiner RE, y cols. Imaging of the brain by nuclear magnetic resonance. *Lancet* 1981; 2 (8237): 53-57.
- Hauser P, Altschuler LL, Berrettini W, Dauphinais ID, Gelernter J, Post RM. Temporal lobe measurement in primary affective disorder by magnetic resonance imaging. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1989; 1 (2): 128-134.
- Krishnan KR, Doraiswamy PM, Figiel GS, Husain MM, Shah SA, Na C y cols. Hippocampal abnormalities in depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1991; 3 (4): 387-391.
- McEwen BS. Possible mechanisms for atrophy of the human hippocampus. *Mol Psychiatry* 1997; 2 (3): 255-262.
- Sapolsky RM. The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death. *Biol Psychiatry* 2000; 48 (8): 755-765.
- Paul IA, Nowak G, Lauer RT, Popik P, Skolnick P. Adaptation of the N-methyl-D-aspartate receptor complex following chronic antidepressant treatments. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 269: 95-102.
- Candrian M, Farabaugh A, Pizzagalli DA, Baer L, Fava M. Perceived stress and cognitive vulnerability mediate the effects of personality disorder comorbidity on treatment outcome in major depressive disorder: a path analysis study. *J Nerv Ment Dis* 2007; 195 (9): 729-37.
- Bisagno V, Ferrini M, Ríos H, Zieher LM, Wikinski SI. Chronic corticosterone impairs inhibitory avoidance in rats: possible link with atrophy of hippocampal CA3 neurons. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 66 (2): 235-40.
- Magariños AM, McEwen BS. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors. *Neuroscience* 1995; 69 (1): 89-98.
- Sapolsky RM. Stress, Glucocorticoids, and Damage to the Nervous System: The Current State of Confusion. *Stress* 1996; 1 (1): 1-19.
- Cladouchos ML, Fernández Macedo GV, Sifonios L, Cassanelli PM, Wikinski S. Glutamatergic role in the light neurofilament decrease in hippocampal neurons of animals exposed to inescapable stress. Presentado en el 15th World Psychiatric Association Congress, Buenos Aires, Septiembre 2011.
- Thoenen H, Zafrán F, Hengerer B, Lindholm D. The synthesis of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in hippocampal and cortical neurons is regulated by specific transmitter systems. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 640: 86-90.
- Acheson A, Conover JC, Fandl JP, DeChiara TM, Russell M, Thadani A, Squinto SP, Yancopoulos GD, Lindsay RM. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature* 1995; 374 (6521): 450-453.
- Rich KM. Neuronal death after trophic factor deprivation. *J Neurotrauma* 1992; Suppl 1: S61-9.
- Karege F, Vaudan G, Schwald M, Perroud N, La Harpe R. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Brain Res Mol Brain Res* 2005; 136 (1-2): 29-37.

18. Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60 (8): 804-815.
19. Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci* 2002; 22 (8): 3251-3261.
20. Nibuya M, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J Neurosci* 1996; 16 (7): 2365-2372.
21. Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 2001; 50 (4): 260-265.
22. Cameron HA, Gould E. Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 1994; 61 (2): 203-209.
23. Gould E. The effects of adrenal steroids and excitatory input on neuronal birth and survival. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 743: 73-92.
24. Gould E, Tanapat P, Rydel T, Hastings N. Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood. *Biol Psychiatry* 2000; 48 (8): 715-720.
25. Vollmayr B, Simonis C, Weber S, Gass P, Henn F. Reduced cell proliferation in the dentate gyrus is not correlated with the development of learned helplessness. *Biol Psychiatry* 2003; 54 (10): 1035-1040.
26. Brezun JM, Daszuta A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience* 1999; 89 (4): 999-1002.
27. Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000; 20 (24): 9104-9110.
28. Alonso R, Griebel G, Pavone G, Stemmelin J, Le Fur G, Soubrié P. Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol Psychiatry* 2004; 9 (3): 278-286, 224.
29. Hellsten J, Wennström M, Mohapel P, Ekdahl CT, Bengzon J, Tingström A. Electroconvulsive seizures increase hippocampal neurogenesis after chronic corticosterone treatment. *Eur J Neurosci* 2002; 16 (2): 283-290.
30. Perera TD, Dwork AJ, Keegan KA, Thirumangalakudi L, Lipira CM, Joyce N, Lange C, Higley JD, Rosoklija G, Hen R, Sackeim HA, Coplan JD. Necessity of hippocampal neurogenesis for the therapeutic action of antidepressants in adult nonhuman primates. *PLoS One* 2011; 6 (4): e17600.
31. Holick KA, Lee DC, Hen R, Dulawa SC. Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/cJ mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33 (2): 406-417.
32. Sifonios L, Trincherio M, Cereseto M, Ferrero A, Cladouchos ML, Macedo GF, Reinés A, Wikinski S. An enriched environment restores normal behavior while providing cytoskeletal restoration and synaptic changes in the hippocampus of rats exposed to an experimental model of depression. *Neuroscience* 2009; 164: 929-940.
33. Pechnick RN, Chesnokova V. Adult neurogenesis, cell cycle and drug discovery in psychiatry. *Neuropsychopharmacology* 2009; 34: 244-254.
34. Sahay A, Hen R. Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nat Neurosci* 2007; 10 (9): 1110-1115.
35. http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/project/hgp.shtml
36. Shyn SI, Hamilton SP. The genetics of major depression: moving beyond the monoamine hypothesis. *Psychiatr Clin Nort Am* 2010; 33 (1): 125-140.
37. Lopez-Leon S, Janssens AC, Gonzalez-Zuloeta Ladd AM, Del-Favero J, Claes SJ, Oostra BA y cols. Meta-analysis of genetic studies on major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 2008; 13 (8): 772-785.
38. Ku CS, Loy EY, Pawitan Y, Chia KS. The pursuit of genome-wide association studies: where are we now? *J Hum Genet* 2010; 55 (4): 195-206.
39. Tsankova N, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci* 2006; 9: 519-526.
40. Wilkinson MB, Xiao G, Kumar A, LaPlant Q, Renthal W, Sikder D, Kodadek TJ, Nestler EJ. (2009) Imipramine treatment and resiliency exhibit similar chromatin regulation in the mouse nucleus accumbens in depression models. *J Neurosci* 2009; 29 (24): 7820-783.
41. Hunter RG, McCarthy KJ, Milne TA, Pfaff DW, McEwen BS. Regulation of hippocampal H3 histone methylation by acute and chronic stress. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106 (49): 20912-20917.
42. Covington HE, Maze I, LaPlant QC, Vialou VF, Ohnishi YN, Berton O y cols. Antidepressant actions of histone deacetylase inhibitors. *J Neurosci* 2009; 29 (37): 11451-11460.
43. Covington HE, Vialou VF, LaPlant Q, Ohnishi YN, Nestler EJ (2011). Hippocampal-dependent antidepressant-like activity of histone deacetylase inhibition. *Neuroscience Letters* 493: 122-126.
44. Mayberg HS, Brannan SK, Tekell JL, Silva JA, Mahurin RK, McGinnis S y cols. Regional metabolic effects of fluoxetine in major depression: serial changes and relationship to clinical response. *Biol Psychiatry* 2000; 48 (8): 830-843.
45. Oathes DJ, Ray WJ. Depressed mood, index finger force and motor cortex stimulation: A transcranial magnetic stimulation study. *Biol Psychol* 2006; 72: 271-277.
46. Bremner JD, Vythilingam M, Ng CK, Vermetten E, Nazeer A, Oren DA, y cols. Regional brain metabolic correlates of a-methylparatyrosine-induced depressive symptoms. Implications for the neural circuitry of depression. *JAMA* 2003; 289: 3125-3134.
47. Drevets WC. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol* 2001; 11: 240-249.
48. Mayberg H. Modulating dysfunctional limbic-cortical circuits in depression: towards development of brain-based algorithms for diagnosis and optimised treatment. *British Medical Bull* 2003; 65: 193-207.
49. Zhou Y, Yu Ch, Zheng H, Liu Y, Song M, Qin W, Li K, Jiang T. Increased neuronal resources recruitment in the intrinsic organization in major depression. *J Affective Dis* 2010; 121: 220-230.
50. Heller AS, Johnstone T, Shackman AJ, Light SN, Peterson MJ, Kolden GG, et al. Reduced capacity to sustain positive emotion in major depression reflects diminished maintenance of fronto-striatal brain activation. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106 (52): 22445-22450.
51. Furman DJ, Hamilton JP, Joormann J, Gotlib IH. Altered timing of amygdala activation during sad mood elaboration as a function of 5-HTTLPR. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2011; 6: 270-276.
52. Engels AS, Heller W, Spielberg JM, Warren SL, Sutton BP, Banich MT, et al. Co-occurring anxiety influences patterns of brain activity in depression. *Cogn Affect Behav Neurosci* 2010; 10 (1): 141-156.
53. Matthews SC, Strigo IA, Simmons AN, Yang TT, Paulus MP. Decreased functional coupling of the amygdala and supragenual cingulate is related to increased depression in unmedicated individuals with current major depressive disorder. *J Affect Disord* 2008; 111 (1): 13-20.
54. Gotlib IH, Hamilton JP, Cooney RE, Singh MK, Henry ML, Joormann J. Neural processing of reward and loss in girls at risk for major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67 (4): 380-387.