

LA PLAQUETA COMO MARCADOR BIOLÓGICO PERIFÉRICO DE LA FUNCIÓN SEROTONINÉRGICA NEURONAL

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

SUMMARY

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

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

Serotonergic similarities in neurons and platelets

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

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

Serotonin actions

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

Serotonin uptake

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

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

Serotonin transporters in platelets and synaptic terminals

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Serotonergic receptors

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

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

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

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

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

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

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

RESUMEN

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

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

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

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

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

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

Receptores serotoninérgicos

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

HT. Estos receptores no se encuentran en las plaquetas.

Receptores postsinápticos 5-HT₂

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

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

Subpoblación 5-HT_{4,7}

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

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

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

INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

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

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

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

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

ANTECEDENTES

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

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

	Neuronas	Plaquetas
Transporte activo para serotonina	+	+
Receptores 5-HT _{2A}	+	+
Sitios de unión a [³ H]	+	+
Almacenamiento subcelular de 5-HT en vesículas	+	+
MAO tipo B	+	+
Biosíntesis de 5-HT	+	-
Transportador de 5-HT en la membrana plasmática	+	+
Transportador de 5-HT en la membrana vesicular	+	+
Enolasa neurona específica	+	+
Unión de serotonina a proteínas	+	-
Vesículas secretoras de serotonina	+	-

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

SIMILITUDES ENTRE LAS PLAQUETAS Y LAS NEURONAS SEROTONINÉRGICAS

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

CAPTURA DE 5-HT

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

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

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

ALMACENAMIENTO DE 5-HT EN PLAQUETAS

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

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

SÍNTESIS, ALMACENAMIENTO VESICULAR Y LIBERACIÓN DE SEROTONINA

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

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

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

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

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

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

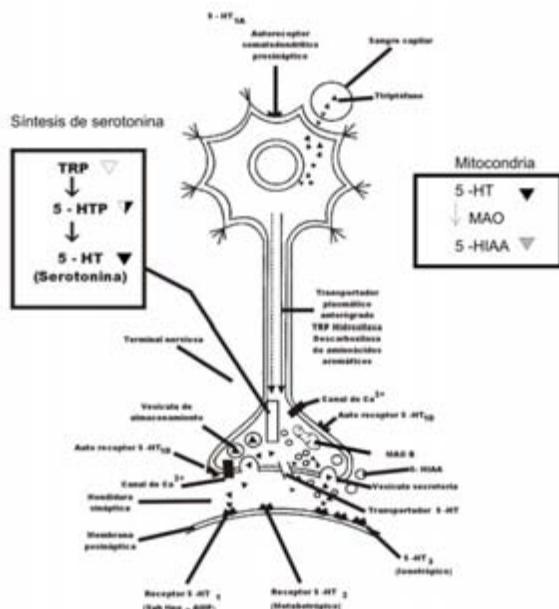


Fig. 1-A. Sinapsis y la neurona serotoninérgica. Las neuronas sintetizan las enzimas que serán las que sintetizan a su vez la serotonina en las terminales sinápticas; estas enzimas serán llevadas a la terminal por medio del transporte axonal. En la terminal sináptica, el triptófano libre es convertido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

Los receptores postsinápticos 5-HT_{1A} no tienen función de autorreceptores; trabajan en combinación con los subtipos de los receptores 5-HT₂, que son responsables de la actividad postsináptica con sistema de segundos mensajeros, lo que influye sobre el recambio de fosfatidilinositol. Los receptores 5-HT₃ son receptores ionotrópicos que permean la entrada de sodio.

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

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

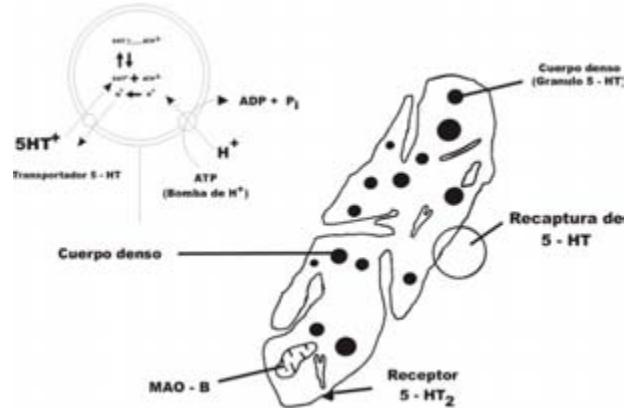


Fig. 1-B. Sistema serotoninérgico en plaquetas sanguíneas. Las plaquetas, en comparación con las neuronas serotoninérgicas, sólo tienen función de almacenamiento de 5-HT, dado que no poseen triptófano hidroxilasa, y por ello no sintetizan serotonina. El receptor 5-HT_{2A} tiene similitudes biológicas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

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

RECEPTORES

Subgrupos de receptores 5-HT

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

Subgrupos de receptores 5-HT₁, pre y post sinápticos

Los receptores 5-HT₁ contienen aproximadamente 450 aminoácidos; pertenecen a la superfamilia de receptores con siete segmentos transmembranales y una estructura alfa-helicoidal, y se relacionan con el sistema de proteínas G. Los receptores presinápticos 5-HT_{1A} tienen una configuración estructural similar a los β_2 adrenoreceptores humanos, con homología cercana a 45% en su secuencia de aminoácidos (Fargin y cols., 1988). Los subgrupos de receptores 5-HT_{1A, B, D, E, y F} participan en la neurotransmisión serotoninérgica sináptica. Sin embargo, los subtipos del 5-HT_{1A, B y D}

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

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

Receptores postsinápticos 5-HT₂ y su respuesta a segundos mensajeros

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

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

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

hipotalámicas como el factor liberador de corticotropina (CRF).

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

Los receptores 5-HT₃

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

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

Subpoblación 5-HT₄

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

TÉCNICAS USADAS PARA EL ESTUDIO DEL ESTADO DE LOS RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS

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

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

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

INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA

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

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

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

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

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

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

Agradecimiento

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

REFERENCIAS

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

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