

Posibles mecanismos y acciones farmacológicas involucradas en el efecto antimaníaco y estabilizador del humor (Primera parte)

Possible mechanisms and pharmacological actions involved in the antimaniac and humor stabilizing effect of drugs (Part I)

Fecha de recepción: 10 de noviembre de 2004 // Fecha de aceptación: 15 de enero de 2005

Resumen

El primer fármaco descrito para el tratamiento farmacológico del trastorno bipolar fue el litio, que fue aprobado por la *Food and Drug Administration (FDA)* tanto para el tratamiento de la manía aguda (antimaníaco), como para la terapia de mantenimiento (estabilizador del humor o del estado de ánimo) del trastorno bipolar. Desde aquel entonces hasta la actualidad se han incorporado diferentes fármacos para el tratamiento de ese trastorno (por ejemplo, el divalproato de sodio, la carbamazepina, entre otros).

En los últimos años se describieron múltiples sitios de acción molecular para el litio, si bien el mecanismo de acción exacto por el cual ejerce sus efectos como antimaníaco o como estabilizador del humor aún no se encuentran del todo dilucidados.

En el siguiente trabajo, que consta de dos partes, se establece la diferencia entre los dos efectos terapéuticos mencionados: el antimaníaco y el estabilizador del humor, y se señalan los mecanismos de acción, con mayor sustento científico, involucrados en la génesis de cada uno de estos efectos. Se establece también cuáles de estos mecanismos son compartidos por los principales fármacos empleados en el tratamiento del trastorno bipolar.

Finalmente, se describe cuál sería el mecanismo de acción común, compartido por las drogas más utilizadas como estabilizadores del estado de ánimo, y se propone cómo la acción farmacológica emergente, modificaría la posible fisiopatología del trastorno bipolar.

Palabras clave

trastorno bipolar, antimaníacos, estabilizadores del humor, litio, mecanismo de acción, valproato, carbamazepina, inositol, GSK-3, cono de crecimiento axonal.

Abstract

Lithium was the first drug used in the treatment of bipolar disorder that was approved by the Food and Drug Administration (FDA) both, for the treatment of acute mania (antimaniac), and for maintenance treatment (humor stabilizer) of bipolar disorder. Since then, numerous drugs appeared for the treatment of the disorder (for example, sodium divalproate, carbamazepine, etc).

In the last years, multiple sites of the molecular action of lithium were described, however the precise mechanism of action responsible of its antimaniac and humor stabilizing effects have not been clarified completely. Some authors postulate that the mechanisms involved in each therapeutic effect would not be as consequence of identical actions.

In this work, which consists of two parts, the difference between the two mentioned therapeutic effects is established: the antimaniac and the humor stabilizer, and the mechanisms of action involved in the genesis of each effect are described with a scientific basis. It is also established which of these mechanisms are shared by the main drugs used in the treatment of bipolar disorder.

Finally, the mechanism of action shared by the drugs commonly used as humor stabilizers is described, and it is proposed how the pharmacological action would modify the pathophysiology of bipolar disorder.

Key words

Bipolar disorders, antimaniacs, humor stabilizers, mechanism of action, lithium, valproate, carbamazepine, inositol, GSK-3, axonal growth cone.

Sebastián Alejandro Alvano

Médico Psiquiatra. Director y Profesor Estable de la Maestría en Psiconeurofarmacología, Universidad Favaloro. Asesor de la Dirección del Hospital José T. Borda. Supervisor y Docente del Servicio de Psicopatología del Hospital Ramos Mejía. Jefe de trabajos prácticos, 1° Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Presidente Honorario y Miembro del Consejo Asesor Permanente de la Asociación de Psicofarmacología y Neurociencia Argentina (APNA).

Introducción

El término “estabilizadores del humor o del estado de ánimo” hace referencia a aquellas drogas utilizadas en la terapia de mantenimiento, para la profilaxis del trastorno bipolar. Debe diferenciarse del término “antimaníaco” dado que este alude al tratamiento de la manía aguda.

El primer fármaco descrito para el tratamiento del trastorno bipolar fue el litio, que ya era utilizado desde el siglo XVII como un producto medicinal para el tratamiento de diferentes cuadros. En 1949, John Cade, un médico australiano, refirió las propiedades del litio para el tratamiento de la manía aguda. En 1970 la FDA aprobó su indicación como antimaníaco, y en 1974 como estabilizador del humor o del estado de ánimo para la profilaxis del trastorno bipolar (1, 2, 3). En la actualidad se utilizan distintos medicamentos para el tratamiento de este trastorno.

Entre los fármacos con mayor eficacia demostrada, y sobre los que se registra la mayor cantidad de trabajos publicados, se deben mencionar, además del litio, al valproato de sodio y a la carbamazepina.

Mientras que el valproato, hasta el presente solo fue aprobado para el tratamiento de la manía aguda (FDA-1995), la carbamazepina, si bien no ha sido aprobada para la terapéutica del trastorno bipolar, ha sido evaluada en una gran cantidad de trabajos científicos, cuyos resultados permitieron demostrar su eficacia como antimaníaco, con lo que pudo ser postulada como una alternativa potencial, especialmente cuando no hay respuesta a la farmacoterapia con litio o con valproato (2).

De acuerdo con lo mencionado, el tratamiento a largo plazo con los anticonvulsivantes como estabilizadores del humor, si bien está avalado por una amplia experiencia clínica, requiere todavía de mayor investigación (3).

En este trabajo se considerará, en primer lugar, aquellos mecanismos de acción que podrían estar relacionados con el efecto antimaníaco, principalmente sobre la base de los trabajos realizados con las tres drogas mencionadas, para presentar luego los mecanismos relacionados con el efecto estabilizador del estado de ánimo.

Dado que el litio es el fármaco con mayor cantidad de estudios clínicos y básicos publicados, como estabilizador del humor (4, 5), se discutirán los principales mecanismos de acción que se correlacionan con este efecto, y luego se indicará cuáles de estos mecanismos son compartidos por el valproato y la carbamazepina. En último término se hará referencia al mecanismo de acción que, potencialmente, podría ser común para las tres drogas, la acción farmacológica resultante del mismo, y la modulación provocada sobre la posible fisiopatología del trastorno bipolar.

Los mecanismos involucrados para el efecto antimaníaco y estabilizador del estado de ánimo serían diferentes

Varias drogas utilizadas para el tratamiento de la fase maníaca o depresiva del trastorno bipolar, con eficacia demostrada para tal indicación, no producen los mecanismos neuroplásticos relacionados con el efecto “estabilizador del estado de ánimo”, ni deben ser llamadas con esta denominación (3). Sin embargo, algunas drogas como el litio, el ácido valproico y la carbamazepina, tienen eficacia tanto en la manía aguda como en la profilaxis del trastorno (2), y ejercen algunos mecanismos de acción a nivel molecular que podrían tener un correlato con el efecto antimaníaco, pero que son diferentes de aquellos relacionados con el efecto estabilizador del estado de ánimo, de mayor latencia.

Los análisis electrofisiológicos durante una crisis convulsiva muestran que las neuronas presentan despolarización y potenciales de

acción de activación a frecuencias altas, un patrón característico de las convulsiones, pero infrecuente durante la actividad neuronal fisiológica.

Muchas de las propiedades anticonvulsivantes de la carbamazepina y del valproato fueron relacionadas con su propiedad para inhibir una sostenida frecuencia de disparo repetitiva, acción atribuida al mecanismo de acción por el cual estos fármacos prolongan la recuperación de los canales de sodio voltaje dependiente de su conformero inactivo al de reposo (estado necesario para pasar al conformero activo, ante la llegada del estímulo umbral). Este mecanismo de acción es compartido por otros anticonvulsivantes como la lamotrigina y la difenilhidantoína (6) también utilizados, principalmente la primera, en el trastorno bipolar. Debe destacarse que la lamotrigina ha demostrado eficacia principalmente para el tratamiento de los episodios depresivos del trastorno bipolar (2). Si bien el mecanismo antes descrito se ha relacionado con el efecto estabilizador del estado de ánimo, parece no ser suficiente, ni necesario, para tal efecto (3), lo cual quedaría demostrado por el hecho que el litio, el fármaco sobre el que se dispone de mayor experiencia clínica como estabilizador del humor entre todos los mencionados previamente, no solo que no cumple con estas propiedades sino que, además, fuera de su rango terapéutico, ejerce efecto proconvulsivante (3).

Así, muchos mecanismos de acción, subyacentes a acciones que podrían dar explicación al efecto antimaníaco, no estarían relacionados con el efecto estabilizador del estado de ánimo. Algunos de ellos son compartidos por el litio, el valproato y la carbamazepina.

Posibles mecanismos y acciones relacionadas con el efecto antimaníaco

El litio, el valproato y la carbamazepina comparten algunas acciones que podrían estar relacionadas con el efecto antimaníaco. Entre ellas se pueden mencionar:

- Aumento de la disponibilidad de GABA: las tres drogas provocan esta acción, además de aumentar la expresión (*up regulation*) del receptor GABA_B en hipocampo y otras regiones límbicas (1, 7, 8).
 - Disminución de la disponibilidad de glutamato: mientras que el litio produce esta acción por aumentar la recaptación de glutamato, la carbamazepina y el valproato lo harían a través del bloqueo de los canales de sodio (1, 7, 8).
 - Interferencia con la vía de señalización del AMPc, involucrada en la neurotransmisión de diferentes monoaminas (dopamina, serotonina, noradrenalina): el litio produce una acción bimodal sobre la adenilil ciclasa y la formación del AMPc, dependiendo del estado de activación. En condiciones basales durante las cuales la inhibición tónica de la formación del AMPc a través de la proteína Gi es predominante, los niveles de AMPc se incrementan; mientras que durante la activación de la adenilil ciclasa a través de receptores acoplados a Gs, la formación de AMPc se atenúa. Se produce así un aumento del AMPc basal y una disminución del estimulado, mecanismos que fueron relacionados con los efectos antidepresivos y antimaníacos, respectivamente. Se debe tener en cuenta que determinados efectos adversos del litio, como la diabetes insípida nefrogénica o el hipotiroidismo subclínico, también se relacionan con la inhibición de la adenilil ciclasa, mecanismo que impide la acción, tanto de la hormona antidiurética (HAD), como de la tirotrófina (TSH) (1, 3, 9).
- Por su parte, la carbamazepina también disminuye la actividad de la adenilil ciclasa (3, 8). Resultados obtenidos en estudios recientes permitieron demostrar que el valproato provoca una disminución del AMPc; aún no queda claro si esta acción es

producida por un mecanismo a través del receptor $\beta\alpha$ (al cual disminuye), en Gs, o a nivel de la adenilil ciclasa (3).

Posibles mecanismos de acción relacionados con el efecto estabilizador del humor

La comprensión de los complejos procesamientos biológicos que subyacen por debajo de las diversas manifestaciones psiquiátricas, permiten una mejor comprensión del mecanismo de acción de los fármacos involucrados. Mediante la modulación de los diferentes sistemas implicados estos mecanismos pueden remitir o prevenir la signosintomatología resultante (10).

Un dato interesante es que los diferentes estudios muestran que tanto los mecanismos de acción (nivel molecular) del litio, como las acciones histológicas emergentes de los mismos tendrían algún tipo de selectividad por aquellas áreas que han sido relacionadas con la fisiopatología del trastorno bipolar. En forma general, estas áreas serían las mismas que están involucradas en el procesamiento emocional, la respuesta al estrés, la depresión unipolar, y los diversos trastornos de ansiedad (3, 10).

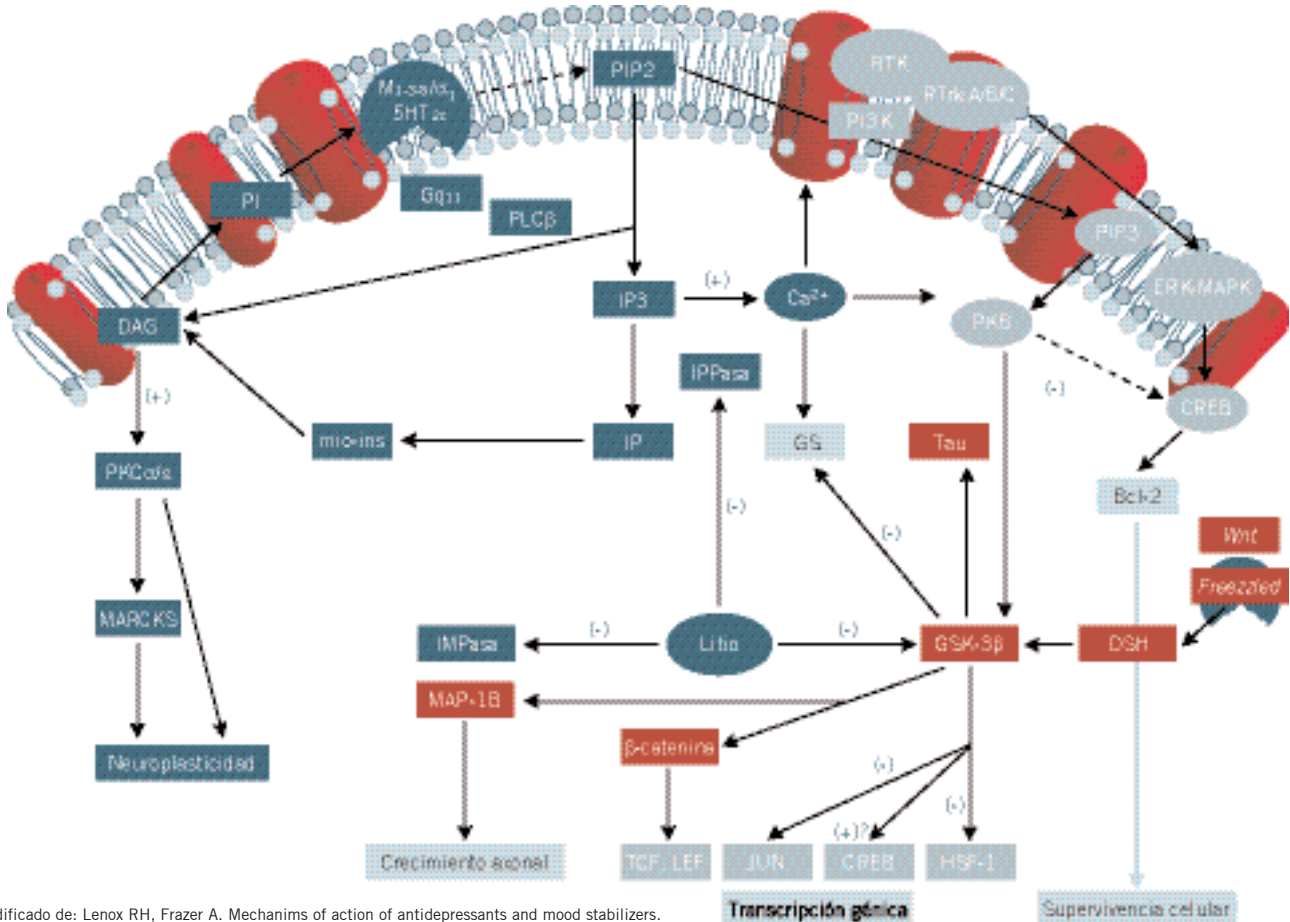
Si bien la discusión escapa a este trabajo, según los conocimientos actuales sería lógico aceptar que, así como un desorden dado no se relaciona "únicamente" con un área o un sistema de neurotransmisión determinado, en el procesamiento de diferentes trastornos pueden intervenir las mismas áreas del sistema nervioso central o por lo menos áreas muy relacionadas entre sí. De esta forma se debe dejar de lado la compartimentalización y la simplificación del sistema nervioso central para entenderlo

como un sistema complejo, dinámico y abierto (10). Aunque las áreas que intervienen en diferentes procesamientos y/o trastornos serían muy similares, las alteraciones que ocurren dentro del circuito neuronal involucrado son diferentes para cada desorden.

Los datos sobre la fisiopatología del trastorno bipolar son menos consistentes que para la depresión unipolar. Sin embargo, se describen alteraciones de determinadas áreas del sistema nervioso central las cuales serían diferentes de aquellas descritas en la depresión unipolar. Las alteraciones más observadas en el trastorno bipolar son la disminución del neuropilo (lámina musgosa formada por axones y fibras dendríticas que ocupa gran parte del volumen de la materia gris cortical) en la corteza prefrontal, y el aumento del volumen de la amígdala, como se verá más adelante (11, 12, 13). La especificidad del litio, anteriormente mencionada, estaría en relación con su concentración superior en zonas con mayor actividad sináptica.

El litio ingresa en la neurona a través de mecanismos que utilizan canales iónicos con gasto de ATP, o a través de un gradiente de concentración sin gasto de ATP. Este transporte iónico sería mayor en las zonas con una actividad sináptica superior. Estas tienen una concentración intracelular de litio de 5 a 10 veces mayor, lo que podría desempeñar algún papel en su especificidad terapéutica (3). Se describirá a continuación los principales mecanismos de acción relacionados con el efecto estabilizador del estado de ánimo (Figura 1), para luego mencionar cuáles de estos *targets*, son comunes con las drogas anticonvulsivantes que fueron mencionadas.

FIGURA 1



Modificado de: Lenox RH, Frazer A. Mechanims of action of antidepressants and mood stabilizers. Davis KL, Charney D, Coyle JJT, Nemeroff ChB, editores. Neuropsychopharmacology, the fifth generation of progress. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2002. p. 1142. *Alvano 2004.*

El ciclo de los Fosfoinositoles

Uno de los primeros mecanismos descritos para el litio ha sido la disminución del mio-inositol (estero isómero del inositol) (14). El fosfatidilinositol (PI) es un fosfolípido de membrana que se forma a partir del diacilglicerol (DAG), el cual recibe un fósforo del CDP y forma el ácido fosfático que, al unirse al inositol, genera el fosfatidil inositol (PI) (15).

El PI sufrirá fosforilaciones sucesivas en el interior de la membrana para formar otros compuestos polifosforilados tales como el fosfatidilinositol 4-5 bifosfato (PIP2) y el fosfatidilinositol 3-4-5 trifosfato (PIP3) (10).

Distintos tipos de receptores (M_{1-3-5} , α_1 , $5HT_{2C}$) acoplados en la proteína G, al ser estimulados, activan a la proteína Gq_{11} , que a su vez activa la fosfolipasa $C\beta$ (PLC β). Las PLC son isoenzimas de membrana que desdoblan el PIP2 en los segundos mensajeros inositol 1-4-5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). Estas isoenzimas pueden ser activadas por dos tipos de sistemas: por la proteína PGq_{11} , como en el caso de la PLC β , o por receptores a tirosin quinasa, como en el caso de la PLC γ , como se verá luego (1, 3, 16).

El IP3 activa canales de los calcisomas, que son depósitos intracelulares de calcio dependientes del retículo endoplásmico que reciben esta denominación en células no musculares, ya que en las musculares constituyen el retículo sarcoplásmico. El calcio (Ca^{2+}) se almacena en estos compartimientos y en las mitocondrias. La fracción libre del mismo se une a la calmodulina (CaM), que actúa como su receptor intracelular, y a otras proteínas como la proteína quinasa C (PKC), para desarrollar una serie de cascadas intracelulares que pueden terminar entre otras acciones regulando la expresión génica (10).

El IP3 va a sufrir luego desfosforilaciones sucesivas producidas por distintas fosfatasas, y dará como resultado el inositol difosfato (IP2), el inositol monofosfato (IP) y el mio-inositol (1, 3, 16).

El litio provoca una inhibición no competitiva de la inositol monofosfatasa (IMPasa). En los últimos tiempos se demostró que también inhibe la inositol polifosfatasa o polifosfato fosfatasa (IPPasa), produciendo una disminución del mio-inositol en el sistema nervioso central (1, 3, 16).

El mio-inositol es la única forma esteroisomérica activa nutricionalmente del inositol, el cual a su vez es un isómero de la glucosa. El mismo puede provenir de la dieta, de la síntesis bacteriana en el intestino, o de la síntesis de *novo* en algunos órganos (15).

El litio provoca disminución del mio-inositol en el sistema nervioso central, en primer lugar porque las enzimas inhibidas (IMPasa y la IPPasa) son claves tanto para el reciclado del inositol como para la síntesis de *novo*, y por otro lado, porque el inositol periférico no atraviesa bien la barrera hematoencefálica (BHE) para reponer el *pool* central (1, 3, 16).

Además, el inositol puede provenir del metabolismo de los hidratos de carbono a través de la glucosa-6 fosfato, vía que también es bloqueada por el litio, según se verá luego (16).

En resumen, el litio provoca una disminución del mio-inositol neuronal, con lo cual disminuye el PI, el PIP2 y el segundo mensajero IP3, disminuyendo así, la respuesta de los agonistas de los receptores acoplados a la proteína Gq_{11} , (y consecuentemente, la activación de la PLC β) (1, 3).

Este mecanismo de acción del litio fue observado en el lóbulo frontal derecho y, si bien fue uno de los primeros descritos, en los últimos tiempos comenzó a cuestionárselo ya que ocurre dentro de los 5 días de administrado el litio, mientras que la respuesta terapéutica se produce entre los días 5 y 21. Por esta razón se comenzó a pensar cómo se podía relacionar esta respuesta

con los mecanismos tardíos. De esta forma la “hipótesis de la depleción de inositol” podría quedar como un mecanismo inicial capaz de gatillar otros más tardíos (1, 3).

Sin embargo, es importante tener en cuenta que, si bien la disminución del inositol ocurre dentro de los 5 días, esta puede durar hasta un mes una vez que se discontinúa el tratamiento (1).

Posibles mecanismos tardíos desencadenados por la depleción del mio-inositol

Una de las hipótesis más fuertes postula que los efectos tardíos del litio, en la profilaxis del trastorno bipolar, pueden estar mediados por el DAG (3).

El DAG es uno de los brazos del desdoblamiento del PIP2, cuyos niveles descienden por la reducción del mio-inositol, disminuyendo subsecuentemente la activación del DAG sobre la PKC (3). El proceso explicado lleva a que se reduzca la fosforilación que la PKC produce sobre diferentes fosfoproteínas de membrana que actúan como su sustrato. Dentro de las mismas la más importante en el cerebro es la proteína denominada MARCKS (sustrato miristoilado rico en alanina de la proteína quinasa “C”) (3, 17).

La PKC puede actuar sobre proteínas asociadas con receptores, canales iónicos, y/o factores de transcripción, regulando la excitabilidad neuronal, la liberación del neurotransmisor, la expresión génica y la plasticidad neuronal. Se trata de una familia de 12 isoenzimas con diferente distribución y funciones celulares en el cerebro (17).

La administración crónica de litio genera una disminución de las isoformas α y ϵ de la PKC en diferentes regiones de hipocampo (*subiculum* y el área CA1) (19) y en la corteza frontal (1, 3).

La proteína MARCKS no es solo un sustrato de la PKC, sino que además su expresión está regulada por factores de transcripción que son fosforilados y activados por esta quinasa.

Luego de la administración de litio durante 4 semanas se observó una disminución de la proteína MARCKS (3, 18). Esta proteína fue relacionada con diferentes procesos neuroplásticos vinculados con el desarrollo y la maduración del sistema nervioso central.

Estudios recientes demostraron que esta proteína tiene una alta expresión en los conos de crecimiento axonal (20) donde, entre otras funciones, cruza enlaces entre los filamentos de actina, confiriéndole una rigidez focal a la membrana plasmática. Así, su disminución facilitaría el crecimiento de los conos, hecho de trascendental importancia (3), según se verá más adelante.

Inhibición de la glucógeno sintasa quinasa 3 β (GSK-3 β)

La GSK-3 β es una serina treonina quinasa, cuyo nombre proviene porque su principal sustrato, entre los muchos que presenta, es la glucógeno sintasa, estando además implicada en múltiples funciones y en diferentes vías de señalización (16).

Existen tres formas de GSK-3: 3 α , 3 β , y 3 β_2 , esta última recientemente identificada, que intervienen en el ciclo de división celular, en la transcripción, en la renovación y diferenciación de las *stem-cell*, en la apoptosis, en el ritmo circadiano, y en la acción de la insulina (21).

Recientes hallazgos sostienen que su inhibición puede ser útil en el tratamiento de muchas enfermedades como por ejemplo el trastorno bipolar, la demencia tipo Alzheimer, el Parkinson, la enfermedad de Huntington, los desórdenes del sueño, la diabetes tipo II, y el cáncer, entre otras, por lo que en la actualidad se han identificado más de 30 inhibidores (21).

Si bien la GSK-3 β se encuentra “constitutivamente” activada dentro de la neurona, en estado basal existe una inhibición tónica

de la misma, proporcionada por diferentes vías de señalización, que evitan sus acciones nocivas, según veremos luego. Esta quinasa es regulada tanto por señales extracelulares, como a través de una autorregulación (mediante la inducción de la proteína fosfatasa 1 o PP1) (4, 16, 21).

En su dominio de regulación intracelular la enzima tiene un resto de serina inhibitorio en la posición 9 (Ser-9), y otro de tirosina con actividad estimulante en la posición 216 (Tyr-216). La fosforilación de Ser-9, disminuye la unión del sustrato al sitio catalítico, en cambio la desfosforilación de este sitio por PP1, o la fosforilación de Tyr 216 la aumentan (4, 21).

El litio inhibe la GSK-3 en concentraciones terapéuticas para el trastorno bipolar, según lo demuestran los últimos trabajos (4), un hecho que había sido discutido previamente. Para esto, actúa por dos mecanismos, uno directo y rápido que compite con el Mg^{2+} (mecanismo por el cual también inhibe diferentes fosfomonoesterasas como la IMPasa y la IPPasa, previamente mencionadas, entre otras), y otro indirecto, y más lento que opera mediante el aumento de la fosforilación de los respectivos sitios inhibitorios de Ser, tanto para la GSK-3 β , como para la GSK-3 α (Ser 9 y Ser 21, respectivamente) (4).

La GSK-3 β forma parte, entre otras, de la vía de señalización de la proteína *Wnt*, y de vías metabólicas y de supervivencia celular que mediante la activación por diferentes ligandos de receptores a tirosina quinasa (RTK) que utilizan la vía de la fosfatidilinositol 3'-quinasa (PI3-K), activan a la proteína quinasa B (PKB) (4, 16, 22). La *Wnt* es una glicoproteína de secreción en vertebrados, cuya homóloga en invertebrados es la proteína *Wingless* (sin alas). Ambas intervienen en el patrón de desarrollo y formación.

La *Wnt* desempeña importantes funciones tanto en el desarrollo embrionario como en funciones del adulto (16). Estudios recientes lograron mostrar que las vías de señalización de la *Wnt* intervienen en guiar la navegación del cono de crecimiento axonal (23).

A partir de estos hallazgos, podría conjeturarse que la inhibición de la GSK-3 β sería otro mecanismo de acción del litio (además de la disminución de la proteína MARCKS), relacionado con el cono de crecimiento. Los últimos trabajos, realizados por Williams & Harwood -2002-, revelaron que diferentes estabilizadores del estado de ánimo provocan acciones similares sobre esta estructura, facilitando la sinaptogénesis, según se verá más adelante (5, 24).

Las vías de señalización de la *Wnt* pueden intervenir tanto en la repulsión, como en la atracción del cono. Para la repulsión la *Wnt* se une al receptor *Derailed* (su nombre proviene del descarrilamiento que provoca al axón), un atípico receptor tirosin quinasa, recientemente descubierto. En cambio, para la atracción se une al receptor de membrana *Frizzled* (del inglés bucle o rizo) (23). Publicaciones recientes revelaron que la unión *Wnt* a los receptores *Frizzled* puede activar tres vías de señalización, las cuales intervienen en diferentes aspectos de la guía del cono y cooperan entre sí:

1. La vía canónica que es modulada por el litio, e involucra la GSK-3 β y las β -cateninas, como se verá a continuación; y otras dos vías que son:
2. La vía de polaridad de las células planas (PCP), que interviene controlando la polaridad tisular de estructuras epiteliales como el folículo piloso,
3. La vía *Wnt-Ca²⁺* que involucra a la proteína G - PLC - Ca²⁺ y PKC. Cuando la unión de la *Wnt* a los receptores *Frizzled* pone en juego la vía canónica, se activa una proteína denominada *Dishevelled* (del inglés despeinada). Aunque esta fue involucrada en las tres vías antes mencionadas, desempeñaría un papel central en la vía

canónica donde inhibe a la GSK-3 β . El litio, entonces, mimetiza esta vía (23).

Si bien, según se destacó previamente, la actividad de la GSK-3 puede ser regulada por diferentes vías de señalización, que a través de distintas proteínas quinastas (como la PKB, la PKA, y la Rsk, entre otras) la desactivan, por fosforilar su sitio inhibitorio de Ser, la modulación fisiológica de la misma en la vía canónica *Wnt* no es regulada por fosforilación. Este hecho le daría un rol preponderante al mecanismo inhibitorio directo del litio, por competencia con Mg^{2+} (4). El valproato también inhibe la GSK-3 β por un mecanismo que, si bien no está del todo claro, sería diferente al del litio (4).

Entre los diferentes sustratos de la GSK-3 β , en la vía canónica, cabe mencionar:

- **Las β -cateninas:** Son proteínas citosólicas y forman parte de la vía canónica, aunque también existe un *pool* de membrana no modificable por drogas (4, 23).

Cuando la GSK-3 β está inhibida las β -cateninas citosólicas aumentan y se translocan al núcleo donde activan factores de transcripción. Este fenómeno se ha observado en corteza prefrontal luego de nueve días de tratamiento con litio o con valproato, no así con carbamazepina (4).

Entre los factores de transcripción que son activados por las β -cateninas cabe mencionar al factor de la célula T (TCF; también conocido como factor de crecimiento linfocitario o LEF). Estos activan a los genes de respuesta *Wnt* (4, 23).

Las β -cateninas no solamente se relacionan con la transcripción, sino que también podrían intervenir en la exploración del axón y en la supervivencia celular (23). Se ha visto que una sobreexpresión de GSK-3 β en el ratón neonatal resultó en una disminución del volumen cerebral. No está claro si esto es por disminuir las β -cateninas o por la acción de la GSK en otro *target* (4).

La ausencia de ligandos externos como la *Wnt* lleva a la activación de la GSK-3 β , que en este estado no fisiológico, fosforilan a las β -cateninas, favoreciendo así la degradación de las mismas por ubiquitinización. Esto es, remoción citoplasmática por ubiquitina, proteína encargada de "limpiar" las proteínas deterioradas en el citoplasma. Hecho éste que no ocurre cuando la GSK-3 β es inhibida por litio o por valproato (4, 16).

- **Las proteínas del citoesqueleto:** La inhibición de la GSK-3 reduce la fosforilación de la proteína asociada con los microtúbulos: MAP-1B, que se expresa en el cono de crecimiento axonal. Esta proteína fosforilada aumenta su unión a los microtúbulos (3, 23). La *Wnt* (a través de la denominada vía canónica divergente) o fármacos como el litio o el valproato, al inhibir a la GSK-3 β inducen su desfosforilación. Esta acción fue relacionada con un aumento del desarrollo axonal y del área de crecimiento (3, 4, 23).

Otra proteína del citoesqueleto, cuyo grado de fosforilación disminuye al inhibir a la GSK-3 β es la proteína Tau, que fue relacionada con la demencia tipo Alzheimer (DTA) (21).

La DTA se caracteriza por tres eventos esenciales: 1- en familiares con DTA, la mutación de alguno de los genes que codifican presenilina-1, presenilina-2, y la proteína precursora del β amiloide (β -APP), resultan en una penetrancia del 100%, 2- la acumulación extracelular de β amiloide: un péptido de 40 a 42 aminoácidos, derivado del clivaje proteolítico de β -APP por distintos complejos enzimáticos, incluyendo β y γ secretasas, y 3- la agregación intracelular de formas hiperfosforiladas de la proteína unida a microtúbulos Tau. La inhibición de la GSK contrarresta estos tres fenómenos (21).

Se mencionó más arriba que la GSK-3 β , además de formar parte de la vía de señalización de la proteína *Wnt*, interviene en cascadas

metabólicas y de supervivencia celular que, mediante la activación por diferentes agonistas de receptores a tirosina quinasa (RTK) que utilizan la vía de la fosfatidilinositol 3'-quinasa (PI3-K), activan la proteína quinasa B (PKB) (16, 21, 22). Dentro de estas cascadas metabólicas y de supervivencia celular podemos mencionar las siguientes:

- **La inhibición de la GSK-3 por la insulina:** Según se refirió más arriba la inhibición de la GSK-3 podría ser de utilidad en la diabetes tipo II. La diabetes tipo-1 se debe a la falta de producción de insulina por parte de las células β pancreáticas. En cambio, la diabetes tipo-2 (90% de los casos) resulta de la resistencia a la insulina. La insulina, entre otras acciones, disminuye la fosforilación y aumenta la actividad de la glucógeno sintasa por inhibir a la GSK-3. Esta inhibición resulta de la acción de la insulina sobre su receptor (RTK tipo II), que activa la vía de la fosfatidilinositol 3'-quinasa (PI3K). La PI3K, a través de su producto el fosfatidilinositol trifosfato (PIP3), activa la PKB que a su vez fosforila a la GSK-3 β (21, 25). Así, el litio y otros inhibidores de la GSK-3 mimetizan el efecto de la insulina aumentando la activación de la glucógeno sintasa y la síntesis de glucógeno, suprimiendo la gluconeogénesis y aumentando la recaptación de glucosa en diferentes cultivos celulares (21). Al facilitarse el pasaje de glucosa a glucógeno se disminuyen los niveles de glucosa 6-fosfato y la formación de inositol a través del metabolismo de los hidratos de carbono (16).

- **La inhibición de la GSK-3 por vías que intervienen en la supervivencia celular:** Antes de introducirnos en este tema es importante remarcar que estudios relativamente recientes demostraron que la GSK-3 β facilita la "apoptosis", término habitualmente tomado como sinónimo de muerte celular programada (PCP), aunque la apoptosis es solo una forma de PCP (4, 10, 26).

Esta acción de la GSK-3 β fue relacionada con sus mecanismos inhibitorios sobre diferentes factores de transcripción. La GSK-3 β activa suprime la transcripción; su inhibición, en cambio, activa factores de transcripción, y la facilita (3, 16, 27).

La GSK-3 β fosforila la familia Jun disminuyendo su unión al ADN. C-Jun, C-Fos y los productos relacionados con los genes tempranos inmediatos (IEG) pueden formar homo o heterodímeros, constituyendo el factor de transcripción AP-1 (proteína activadora-1) que se unirá al sitio AP-1, intensificando la transcripción de los genes que contengan este sitio en su porción regulatoria (3, 16, 22).

Sobre el factor de transcripción CREB, si bien en los primeros trabajos se describió que la fosforilación del mismo por la GSK-3 β facilita su unión al ADN, en estudios posteriores se observó que la GSK-3 β provoca un cambio conformacional en el CREB, que disminuye su unión al sitio CRE (28). Este hecho, junto con la inhibición del HSF-1 o factor de transcripción -1 de choque térmico, serían los datos que permiten relacionar la GSK-3 β con la apoptosis.

La respuesta de choque térmico, como se conoce habitualmente, es un mecanismo de protección que se activa rápidamente ante situaciones letales como el aumento de la temperatura, el estrés oxidativo, el estrés osmótico, u otras agresiones. Ante estas circunstancias se activa el HSF-1, el cual aumenta la expresión de proteínas de choque térmico que protegen a la célula frente a situaciones letales (27).

Como se verá a continuación, la GSK-3 β puede ser inhibida por la acción de agonistas de los receptores Trk capaces de activar la vía de la fosfatidilinositol-3'-quinasa (PI3K) (3, 25), vía que está íntimamente relacionada con la supervivencia celular (10).

Relación del litio con diferentes vías que intervienen en la supervivencia celular, y los receptores Trk

Uno de los principales mecanismos que promueven la supervivencia celular y evitan la apoptosis, consiste en que en el interior de la célula se exprese mayor cantidad de proteínas antiapoptóticas, sobre las proapoptóticas. La principal proteína antiapoptótica es la Bcl-2, cuya acción será presentada más adelante (10).

El tratamiento crónico con litio y con valproato aumenta la expresión de la Bcl-2 en las láminas II y III de la corteza frontal, en el giro dentado y en el estriado (3, 8, 11, 13, 29). Estos datos son sugestivos teniendo en cuenta que una de las zonas que registró la mayor pérdida neuronal en el trastorno bipolar ha sido la lámina II de la región orbito-frontal (3) (13), zona donde a su vez el litio demostró su máxima potencia neuroprotectora (13).

Los receptores troponina quinasa o Trk (*troponin receptor kinase*) pertenecen a la superfamilia de los denominados receptores transductores, debido a que en la misma proteína se encuentra la unidad receptora y la transductora, ambas separadas por una porción de transmembrana. A su vez, dentro de esta superfamilia pertenecen a otra familia denominada tirosina quinasa (TK). Por eso es importante no confundir la sigla TK con Trk (10).

Existen tres subtipos de Trk, los cuales constituyen los principales receptores (de alta afinidad) donde actúa la familia de factores neurotróficos denominada neurotrofinas. Estos subtipos son: el Trk A, donde se une el NGF (*nerve growth factor* o factor de crecimiento nervioso), el Trk B al cual se une el BDNF (*brain-derived neurotrophic factor* o factor neurotrófico derivado del cerebro) y la NT 4/5 (*neurotrophin* o neurotrofina 4/5), y el Trk C donde se une la NT 3 (*neurotrophin* o neurotrofina 3), aunque esta también se une en menor grado al TrkB (10).

A través de estos receptores las neurotrofinas ejercen sus conocidos efectos como promotores de la supervivencia celular y de mantenimiento de las distintas funciones de las neuronas adultas, como, así también, en la diferenciación durante el desarrollo (10). Las neurotrofinas pueden actuar, además, en el receptor P75^{NRT}, que es de baja afinidad para toda la familia y además, las diferentes neurotrofinas tendrían una afinidad similar por este receptor. Más allá de que el mismo haya sido relacionado con algunos efectos tróficos, lo paradójico de este receptor es que al ser activado en neuronas que no expresan Trk es proapoptótico (10).

Cuando la neurotrofina se une a su correspondiente receptor Trk, se produce una dimerización del mismo. Este cambio conformacional hace que se enfrenten los dominios intracelulares con actividad tirosina quinasa, produciéndose la autofosforilación del propio receptor y de otras proteínas efectoras. El receptor fosforilado permitirá la unión de esas proteínas iniciando así toda la cascada de amplificación. Dependiendo del tipo celular pueden ser activadas diferentes vías de señalización. Estas incluyen:

1. La vía de la fosfatidil inositol-3'-quinasa (PI3K),
2. La vía de la ERK-MAP quinasa (quinasa regulada por señales extracelulares o proteína quinasa activada por mitógenos)
3. La vía que implica la fosfolipasa C γ (PLC γ).

Como se destacó anteriormente, las PLC pueden ser activadas por dos tipos de sistemas: la PGq₁₁, como en el caso de la PLC β , o por receptores a tirosina quinasa, como en el caso de la PLC γ . Una vez activada esta última por el receptor TRK, se produce el desdoblamiento del PIP₂ en los segundos mensajeros IP₃ y DAG, cuyas acciones ya fueron citadas.

Las otras dos vías (PI3K y ERK-MAP quinasa) desempeñan, entre otras funciones, un papel central en mantener la supervivencia celular.

Según se ha visto, la vía de la fosfatidil inositol-3'-quinasa (PI3K),

a través de su producto PIP3, activa a la proteína quinasa B (PKB), anteriormente llamada AKT (10). La PKB fosforila e inhibe proteínas con acción proapoptótica recientemente descubiertas como la GSK-3 β , así como otras clásicas proteínas proapoptóticas como la Bad (impidiendo que esta, a su vez, inhiba a la Bcl-2) (3, 10, 27). Además, si bien no está del todo demostrado, la PKB sería una de las quinasas que fosforila al CREB, favoreciendo su unión al sitio CRE (13).

Por su parte, la vía de ERK-MAPquinasa, fue relacionada ampliamente con la supervivencia neuronal, además de estar involucrada en otros procesos como la diferenciación celular, la formación de memorias y en diferentes cambios plásticos. Esta vía es una cascada de activación de diferentes proteínas quinasas. La activación del Trk provoca la activación de una proteína asociada de membrana, la Ras, que actúa como transductor. Una vez activada, esta activa una serina quinasa, la Raf. Así se da inicio a una cascada de quinasas donde la Raf activa a MEK (de MAP o ERK quinasa) y esta fosforila y activa a ERK (también llamada MAPquinasa o MAPK). Esta última, es una quinasa abundante y multifuncional que puede actuar sobre muchos efectores, por ejemplo: a través de la activación de la quinasa ribosomal S-6, fosforila el CREB induciendo la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 (10).

El tratamiento crónico con litio o valproato aumenta la expresión de la Bcl-2. Estos fármacos utilizarían mecanismos distintos para generar esta acción, que está relacionada con la vía de la ERK-MAPK en el caso del valproato, y con múltiples mecanismos en el caso del litio, entre los cuales uno de los mejores estudiados es la activación de la PKB, según se verá luego. Sin embargo, conviene destacar que las últimas investigaciones también relacionan al valproato con la activación de esta quinasa (3, 8, 11, 13, 29).

Conclusiones

Para el tratamiento del trastorno bipolar el litio es el fármaco que registra mayor cantidad de trabajos clínicos y básicos publicados. Este fármaco fue aprobado por la FDA tanto para el tratamiento de la manía aguda (antimaniaco), como para la terapia de mantenimiento (estabilizador del humor o del estado de ánimo). Si bien los mecanismos de acción exactos, para cada uno de estos efectos terapéuticos, aún no se encuentran del todo dilucidados, los mismos no serían el resultado de acciones idénticas.

El litio, al ácido valproico y la carbamazepina comparten algunas acciones que podrían estar relacionadas con el desarrollo de su efecto antimaniaco: 1) el aumento de la disponibilidad de GABA, 2) la disminución de la disponibilidad de glutamato y 3) la interferencia con la vía de señalización del AMPc, la cual se encuentra involucrada en la neurotransmisión de diferentes monoaminas (por ejemplo, la dopamina, la serotonina, la noradrenalina).

Por su lado, los principales mecanismos que podrían estar vinculados con el efecto estabilizador del ánimo son:

1. la disminución del mio-inositol en el sistema nervioso central: el litio inhibe en forma no competitiva la inositol monofosfatasa (IMPasa) y a la inositol polifosfatasa (IPPasa), enzimas claves tanto para el reciclado del mio-inositol como para la síntesis de *novο*. Por su parte el inositol periférico no atraviesa la barrera hematoencefálica.

La disminución de este esteroisómero del inositol trae aparejado: **a)** una disminución del PI, el PIP2 y el segundo mensajero IP3, disminuyendo así la respuesta de los agonistas de los receptores acoplados a la proteína Gq₁₁ (y, consecuentemente, la activación

de la PLC β) ; y **b)** una disminución de los niveles de DAG, lo que produce subsecuentemente la disminución de la activación de la PKC, y por consiguiente la reducción de la fosforilación que esta quinasa produce sobre diferentes fosfoproteínas de membrana (como la denominada MARCKS) y sobre proteínas asociadas con receptores, canales iónicos y/o factores de transcripción, regulando así la excitabilidad neuronal, la liberación de neurotransmisores, la expresión génica y la plasticidad neuronal. La disminución de la proteína MARCKS se ha asociado con un aumento del desarrollo de los conos de crecimiento axonal.

2. la inhibición de la glucógeno sintasa quinasa 3 β : La GSK-3 β forma parte, entre otras, de la vía de señalización de la proteína *Wnt*, y de vías metabólicas y de supervivencia celular.

Recientes estudios han demostrado que las vías de señalización de la *Wnt*, intervienen en guiar la navegación del cono de crecimiento axonal. Así, la inhibición de la GSK-3 β sería otro mecanismo de acción del litio relacionado con el cono de crecimiento. La inhibición de ésta serina treonina quinasa en la vía canónica de la *Wnt* resulta en: **a)** un aumento de las β -cateninas citosólicas, las cuales se traslocan al núcleo donde activan factores de transcripción como el TCF que activan genes de respuesta *Wnt*; y **b)** una reducción de la fosforilación de la proteína asociada con los microtúbulos (MAP-1B).

Otra proteína del citoesqueleto, cuyo grado de fosforilación disminuye al inhibir a la GSK-3 β es la proteína Tau, la cual se ha relacionado con la demencia tipo Alzheimer.

Además, la GSK-3 β forma parte de vías metabólicas y de supervivencia celular que mediante la activación por diferentes agonistas de receptores RTK que utilizan la vía de la fosfatidilinositol 3'-quinasa (PI3-K), activan a la PKB. De ésta forma la GSK-3 β puede ser inhibida tanto por la insulina, como por cascadas de supervivencia celular que a través de la PKB por un lado fosforilan e inhiben proteínas con acción proapoptótica, como la GSK-3 β y la Bad; y por otro, favorecen un efecto antiapoptótico al fosforilar al CREB, facilitando así su unión al sitio CRE.

Por lo tanto se constata así las diferencias existentes entre los mecanismos de acción involucrados en el efecto antimaniaco y estabilizador del humor (o del estado de ánimo).

La disminución del mio-inositol y la inhibición de la GSK-3 β serían las responsables de desencadenar eventos a largo plazo, como la neuroprotección y el aumento de la sinaptogénesis en determinadas áreas afectadas, las cuales subyacen a las propiedades profilácticas de éstas drogas y previenen la recurrencia de nuevos episodios.

En la segunda parte de este artículo, se describirá en primer lugar las acciones farmacológicas del litio que más se relacionan con su efecto neuroprotector: el aumento de la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 y la disminución de la excitotoxicidad mediada por glutamato. En segundo lugar, se describirán los mecanismos de acción y acciones farmacológicas que otros estabilizadores del humor (por ejemplo, el valproato de sodio y la carbamazepina) comparten con el litio. A continuación se hará referencia al potencial mecanismo de acción común involucrado con el efecto estabilizador del estado de ánimo, a través de las acciones emergentes en el cono de crecimiento.

En último término se postulará el posible correlato existente entre la modulación provocada por las acciones farmacológicas de los estabilizadores del humor sobre la probable fisiopatología del trastorno bipolar.

Referencias bibliográficas

- 1) Freeman MP, Wiegand Ch, Gelenberg AJ. Lithium. Schatzberg AF, Nemeroff ChB. Textbook of Psychopharmacology. 3 ed. Washington DC: American Psychiatric Publishing;2004. p. 547-65.
 - 2) Alvano SA. Pautas para el tratamiento del trastorno bipolar. Zieher LM, Alvano SA, Fadel D, Iannantuno R, Serra A, editores. Psiconeurofarmacología clínica y sus bases neurocientíficas. 3 ed. Buenos Aires: Siltor;2003. p. 398- 403.
 - 3) Lenox RH, Frazer A. Mechanism of action of antidepressants and mood stabilizers. Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff ChB. Neuropsychopharmacology, the fifth generation of progress. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins ;2002. p. 1139-63.
 - 4) Gould TD, Chen G, Manji HK. In vivo evidence in the brain for lithium inhibition of glycogen synthase kinase-3. Neuropsychopharmacology 2004;29:32-8.
 - 5) Cordeiro ML, Gundersen CB, Umbach J. Convergent effects of lithium and valproate on the depression of proteins associated with large dense core vesicles in NGF-differentiated PC12 cells. Neuropsychopharmacology 2004;29:39-44.
 - 6) Mc Mara JO. Fármacos eficaces para el tratamiento de las epilepsias. Hardman JG, Limbrid LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9º ed. México: McGraw-Hill Interamericana;1996. p. 491-519.
 - 7) Borden Ch. Valproate. Schatzberg AF, Nemeroff ChB. Textbook of Psychopharmacology. 3º ed. Washington DC: American Psychiatric Publishing; 2004. p. 567-79.
 - 8) Ketter TA, Wang Po W, Post RM. Carbamazepine and Oxcarbazepine. Schatzberg AF, Nemeroff ChB. Textbook of Psychopharmacology. 3º ed. Washington DC: American Psychiatric Publishing;2004. p. 581-606.
 - 9) Jope RS. Anti-bipolar therapy: mechanism of action of lithium. Mol Psychiatry 1999;4:117-28.
 - 10) Alvano SA. Perspectiva Neurocientífica. Medicina s.a ed. Avatares de la Clínica. Buenos Aires: Masson Doyma;2004. p. 25-123.
 - 11) Manji HK, Drevets WC, Charney DS. The cellular neurobiology of depression. Nat Med 2001;7:541-7.
 - 12) Strakowski SM, Adler CM, DelBello MP. Volumetric MRI studies of mood disorders: do they distinguish unipolar and bipolar disorder? Bipolar Disord 2002;4:80-88.
 - 13) Chuang DM, Chen RW, Chalecka-Franaszek E, Ren M, Hashimoto R, Senatorov V. Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases. Bipolar Disord 2002;4:129-136.
 - 14) Berridge MJ, Downes CP, Hanley MR. Neural and developmental actions of lithium: a unifying hypothesis. Cell 1989;59:411-9.
 - 15) Marcus R, Coulston AM. Las vitaminas. Goodman Gilman A, Rall TW, Nies AS, Taylor P. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8º ed. México: Editorial Médica Panamericana;1991. p. 1471-77.
 - 16) Zorrilla Zubilete M. Caminos intracelulares de comunicación neuronal vinculados a la familia de proteínas Wnt y su relación con el mecanismo de acción del litio y la enfermedad de Alzheimer. Psicofarmacología 2000;7:8-11.
 - 17) Manji HK, Chen G. PKC, MAP kinases and the bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. Mol Psychiatry 2002;7:846-56.
 - 18) Watson DG, Lenox RH. Chronic lithium-induced down-regulation of MARCKS in immortalized hippocampal cells: potentiation by muscarinic receptor activation. J Neurochem 1996;67:767-77.
 - 19) Chen G, Rajkowska G, Du F, Seraji-Bozorgzad N, Manji HK. Enhancement of hippocampal neurogenesis by lithium. J Neurochem 2000;75: 1729-34.
 - 20) Swierczynski SL, Blackshear PJ. Myristoylation-dependent and electrostatic interactions exert independent effects on the membrane association of the myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate protein in intact cells. J Biol Chem 1996;271:3424-30.
 - 21) Meijer L, Flajolet M and Greengard P. Pharmacological inhibitors of glycogen synthase kinase 3. Trends Pharmacol Sci 2004;25:471-80.
 - 22) Gould TD, Manji HK. The Wnt signaling pathway in bipolar disorder. Neuroscientist 2002;8:497-511.
 - 23) Zou Y. Wnt signaling in axon guidance. Trends Neurosci 2004;27:528-32.
 - 24) Williams RS, Cheng L, Mudge AW, Harwood A. A common mechanism of action for three mood-stabilizing drugs. Nature 2002;417:292-5.
 - 25) Jufé G, Mazaira S, Zorrilla M. Farmacología del litio. Zieher LM, Alvano SA, Fadel D, Iannantuno R, Serra A, editores. Psiconeurofarmacología clínica y sus bases neurocientíficas. 3º ed. Buenos Aires: Siltor;2003. p. 391-7.
 - 26) Pap M, Cooper GM. Role of glycogen synthase kinase - 3 in the phosphatidylinositol 3- kinase/Akt cell survival pathway. J Biol Chem 1998;273:929-32.
 - 27) Li X, Bijur GN, Jope RS. Glycogen synthase kinase-3 , mood stabilizers, and neuroprotection. Bipolar Disord 2002;4:137-44.
-