

# TUMOREAK, ESTRES SOZIALAK ETA ESTRESARI AURRE EGITEKO ESTRATEGIEK JOKABIDE DEPRESIBOAN ETA GARUNAREN AKTITIBATEAN DUTEN ERAGINA.

Olatz Goñi-Balentziaga, Oscar Vegas, Ainitze Labaka eta Larraitz Garmendia

*Psikobiologia arloa. Oinarritzko Psikologia Prozesuak eta Garapena Saila,*

*Psikologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea.*

*Kontakturako posta: olatz.goni@ehu.eus*

## *Laburpena*

Depresioak lotura estua du minbiziarekin eta estres sozialarekin, baina harreman hori eragiten duten mekanismoen inguruko informazioa ez dago erabat osatuta. Hori dela eta, tumoreek eta estresak garunaren aktibitatean duten eragina aztertzea du helburu ikerketa honek. Horretarako, OF1 sagu arrei B16F10 melanoma zelulak inokulatu eta azpitalde bati estres soziala eragin zaio. Tumoreak garuneko serotonina maila murriztu eta 3-HK neurotoxikoaren maila handitu du. Azken efektu hori estresari aurre egiteko strategi pasiboak dituzten saguetan ere azaldu da. Jokaerari dagokionez, tumoreak sakarosarekiko preferentzia txikitu eta eremu irekiko frogan gelditasuna handitu ditu. Ondorioz, tumoreak bide toxikoa aktibatu eta jokaera depresiboak areagotu dituela adierazten dute datuek.

Hitz gakoak: jokaera depresiboa, estresa, tumorea, serotonina, saguak.

## *Abstract*

*Depression is associated with both, cancer disease and social stress, but mechanisms underlying this relation are still inconclusive. Therefore, this study analyses the effects of tumor and stress on brain activity. OF1 male mice were inoculated with B16F10 melanoma tumor cells and a subgroup was exposed to social stress. Results indicate that tumor reduces brain serotonin level and rises neurotoxic 3-HK level. This effect is also seen in mice using passive coping strategy. Furthermore, tumor decreases the preference of sucrose and increases immobility in the open field test. This data indicate that the neurotoxic pathway of the kynurenine may be activated by tumor which could contribute to the appearance of depressive-like behaviour.*

*Keywords: depressive-like behavior, stress, tumor, serotonin, mice.*

## **1. Sarrera eta motibazioa**

XXI. mendeko buru nahasterik ohikoena depresioa da. Bizi erritmo frenetikoak eta gizarte eskakizun altuek depresio nahasteen areagotzea eragin dute herritarrengan. Osasunaren Munduko Erakundearen azken datuen arabera, 2015ean munduko biztanleriaren %4,4k depresio nahasteren bat zuen. Gainera, ugaritzen doan nahastea da, 2005etik %18,4 hazi baita prebalentzia eta datozen urteetan joerak gorantz jarraituko duela uste da. Ezintasun kasuei dagokienean, Europar bigarren postuan dago, eta Ameriketara dagoeneko lehenengo lekua hartu du (World Health Organization, 2017a).

Garai bereko gaitz bat aipatzekotan berriz, minbizia nabarmenduko genuke. Munduan hildako gehien eragiten dituen bigarren gaitza da. 2015ean 8,8 milioi heriotza eragin zituen, hau da, 6 heriotzatik 1 kantzerrak eragin zuen. Gainera datozen bi hamarkadetan, kasu berrien kopurua %70 haziko omen da (World Health Organization, 2017b).

Bi nahasteek harreman estua dute. Hainbat ikerketen arabera, nahaste depresiboen prebalentzia hirukoitza da minbizia igaro duten gaixoetan (Linden, Vodermaier, Mackenzie eta Greig, 2012). Hori azaltzen duten hainbat aldagai daude. Alde batetik, ezin da ahaztu kantzerraren diagnosiak eragindako estres egoerak depresio jokabidea garatzeko aukerak areagotu egiten dituela, baina badira beste arrazoi biologiko batzuk. Kantzerraren gaixoei gaitza garatzeko beharrezkoak diren hanturazko zitokina maila altuak dituzte, eta horiek depresio nahasteetan duten garrantzia nabarmena da (Jehn et al., 2006). Horregatik, depresio nahasteen hanturazko hipotesia da gure aztergaia.

## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Depresioa nahasteak DSM-5 eskuliburuko kategoria nagusi bat osatzen dute, eta bertan, honako sintomak aipatzen dira diagnosia burutzeko: gogo aldarre deprimitua egunaren zati handiengan, pisu galtze edo irabazte nabarmena, insomnia edo hipersomnia, nekea edo energia galera, pentsatzeko eta arreta mantentzeko gaitasunen beherakada, plazeraren eta interesaren beherakada nabarmena (anhedonia), eta abar (American Psychiatric Association, 2013).

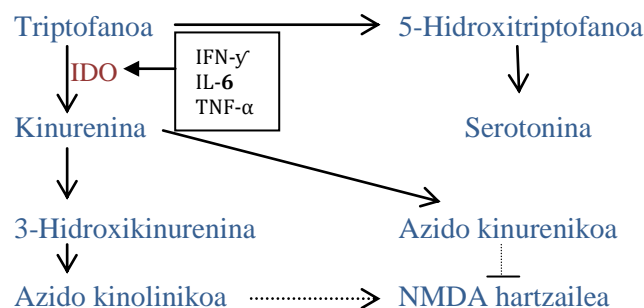
Azken hamarkadetan, depresioaren inguruko ikerketak ugaritu arren, nahastearen etiologiaren inguruko datuak osatugabeak dira oraindik. Hipotesi nagusienetarikoa bat, hanturazko hipotesia da (Maes, 1995), eta hanturazko zitokinek sintoma depresiboen garapena bultzatuko luketela dio. Zitokinak molekula mezulariak dira, gorputzeko periferian izandako hantura prozesuen inguruko informazioa garunera helarazten dutenak. Baina funtzio horrez gain, hainbat prozesu fisiologikotan eta neurokimikotan ere parte hartzen dute (Curf, Meis eta Hoogkamp-Korstanje, 1997).

Hainbat ikerketek hantura faktoreen eta depresioaren larritasunaren arteko korrelazioa antzeman dute (Hiles, Baker, Del Malmanche eta Attia, 2012). Gainera, hanturazko prozesuak garatzen dituzten gaitzek (minbiziak, besteak beste), depresio nahasteekin intzidentzia handiagoa dutela ikusi da (Evans et al., 2005). Estresaren eta depresioaren arteko harremana ere oso estua da, batez ere, estres soziala bada. Hainbat autorek diotenaren arabera estres egoeretan askatutako glukokortikoideen erregulazio okerra gauzatzean, depresio jokabidea eragingo luketen prozesu biologikoak areagotu egiten dira (Gómez-Lázaro et al., 2011). Hala ere, estres egoeren aurrean ez dugu denok berdin erantzuten, eta norbanakoen estrategia ezberdinek uste duguna baino zerikusi handiagoa izan dezakete gure garunean, estresak eragiten dituen ondorioak baldintzatu baititzakete (Bartolomucci et al., 2001).

Zitokinek bide ezberdinetatik eragin ditzakete jokabide aldaketak:

- Hipotalamo-Pituitario-Adrenal (HPA) ardatza: HPA ardatzaren jarduera handia atzeman da depresio nahastea duten pertsonengan. Zitokinek ardatzaren aktibitatea handitu eta honen funtzionamendu okerra eragiten dute. Gainera, bertan jariatzen den kortikotropina askatzailearen hormona depresio nahasteekin erlazionatuta dago, eta antsietatea areagotzea, erantzuteko gaitasun murrizketa, alterazio psikomotorak, loan aldaketak, apetitu eta libido galerak, eta narriadura kognitiboa eragiten ditu (Gold eta Chrousos, 2002).
- Neurotransmisioa: depresioaren inguruko lehen ikerketek, depresioa setononina mailaren beherakadak eragiten zuela ondorioztatu zuten (Schildkraut, 1965). Aurrerago burututako beste ikerketak, ordea, neurotransmisore honen hartzaile eta garraiatzaileei egotzi zieten jokaera aldaketen ardura (Arango et al., 2001). Horien ondorioz, serotonina eta bere aurrendari den triptofanoaren maila baxuagoak atzeman dira depresio nahastea duten pertsonengan (Maes eta Meltzer, 1995). Zitokinek eragin zuzena dute serotoninaren gutxitzean, molekula horiek indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO) entzima aktibatuz (Dantzer et al., 2008), triptofanoa kinureninaren deribatuetan degradatzea eragiten baitu (Widner, Ledochowski eta Fuchs, 2000). Hortaz, triptofano kopuru murriztagoa izango da serotonina sintetizatzeko, serotoninaren beheraka eraginez.
- Neurotoxizitatea: aurreko atalean aipatu bezala, zitokinek IDO aktibatzean kinureninaren deribatuen produkzioa areagotu egiten da. Bi dira kinureninaren deribatuak (Maes, Leonard, Myint, Kubera eta Verkerk, 2011): funtzio babeslea duen azido kinurenikoa eta neurotoxikoa den azido kinolinikoa. Azken honek garunaren neurodegenerazioan eragina du, jokabide aldaketak eraginez (Haroon, Raison eta Miller, 2012).

1.irudia. Triptofanoaren degradazio prozesuak. Iturburu: Jin eta Fall (2013).



Hanturazko zitokinen eta depresioaren arteko harremana baieztatzen duten datuak izan arren, depresioaren kontrako hainbat farmakok ez dute sustantzia hori ardatz hartzen. Norabide honetan esku hartuko luketen farmako berriak aurkitzeko zailtasun nagusia, zitokinek depresioa eragiteko dituzten prozeduren inguruko informazio osatua falta dela da. Hori dela eta, mekanismo hauen inguruko ikerketa gehiago behar lirarteke.

## 2.1 Ikerketaren helburuak

Aurretikoak kontuan hartuta, ikerketa honek tumoreak eta estres sozialak depresio jokabidean dituzten eraginak aztertzea du helburu. Gainera, aldagai horiek garunean eragiten dituzten aldaketak eta hauek jarraituko duten bidea zehaztu nahi da. Horretarako, ondorengo helburu zehatzak landuko dira:

- Melanoma tumoreak (B16F10) eta estresak jokabide depresiboarengan dituzten ondorioak aztertzea. Jokabide depresiboa sakarosarekiko preferentzia testaren (Sucrose Preference Test: SPT), eremu irekiko frogaren (OFT: Open Field Test) eta behartutako igeriketa frogaren (Forced Swim Test: FST) bidez zehaztuko da.
- Zitokinek depresioan eragiteko erabiltzen dituzten mekanismoak aztertzea: horretarako, hipokanpoko eta nukleo estriatuko serotonina (5-HT), haren aurrendaria den triptofanoa (TRIP), eta hauen metabolitoak; azido 5-hidroxiindoleazetikoa (5-HIAA), kinurenina (KIN) eta 3-hidroxikinurenina (3-HK) zehaztea da helburua.
- Estres egoeran erabilitako estrategien arabera, bi talde osatzea: jokaera aktiboa edo pasiboa desberdinduz.
- Estrategia ezberdinen arabera, jokabide depresiboan eta garun aldaketetan dituzten desberdintasunak aztertzea.

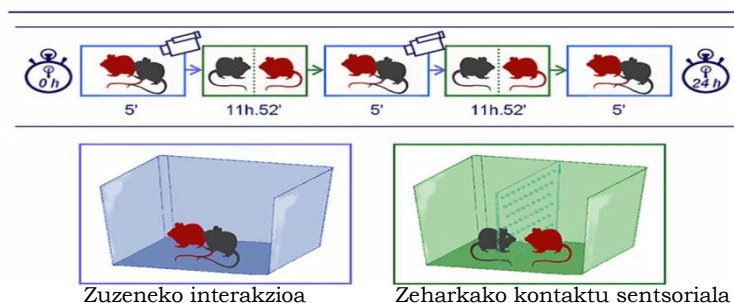
## 3. Ikerketaren muina

### 3.1 Ikerketaren diseinua

Ikerketa aurrera eramateko, honako esperimientua gauzatu zen:

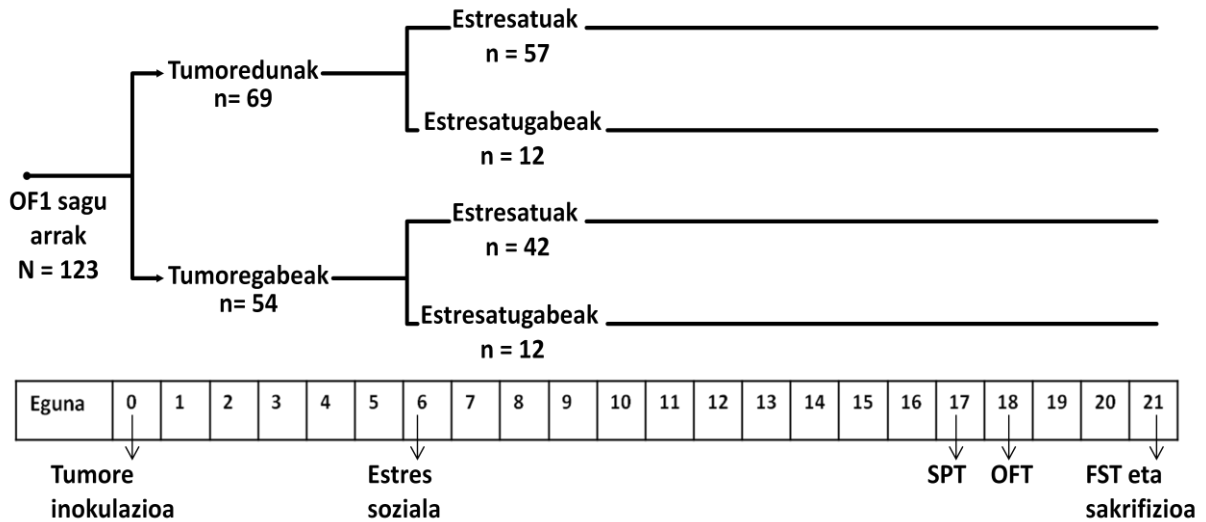
OF1 sagu arren talde bati B16F10 melanoma tumore zelulak inokulatu zitzaizkion eta 6 egun geroago, azpialde bati estres soziala eragin zitzaion kontaktu sensorialaren eredu bidez. Horretarako, saguak agresibitate maila altuko beste sagu baten kaxan sartu ziren 24 orduz. Denbora horretan, zuzeneko interakzioa jasan zuten 5 minutuko 3 saiotan, eta saio batetik besterako tartean, eraso fisikoetatik babestuta egon ziren zulatutako metakrilatozko bereizle batekin, honek kontaktu sensoriala mantentzea ahalbidetu zuen. Gainera, saguen arteko elkarrekintzak grabatu ziren, haien jokabidea ebaluatu eta saguak talde aktibo edo pasiboetan sailkatzeko.

#### 2.irudia. Saguai estres soziala eragiteko kontaktu sensorialaren eredu.



Inokulazio egunetik 17 egunera, jokabide depresiboa neurtzeko frogak hasi ziren. Lehenengo SPT froga pasa zitzaian, anhedonia maila neurtzeko. 24 orduz sakarosa eta ur botila batetik nahi adina edateko aukera izan zuten, eta epe horretan kontsumitutakoa neurtu zen. Hurrengo egunean, OFT testaren bidez, eremu irekian esploratzen (mugimenduan) edo geldirik iragandako denbora neurtu zen, eta 21. egunean uretan igerian edo geldik iragandako denborak eskuratu ziren, FST frogaren bidez. Segidan, saguak sakrifikatu ziren, odola eta garuneko hipokanpo eta nukleo estriatua eskuratzeko. Erresoluzio altuko kromatografia likido (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) bidez garuneko 5-HT, TRIP, 5-HIAA, KIN, 3-HK mailak neurtu ziren.

3.irudia. Ikerketaren kronograma.



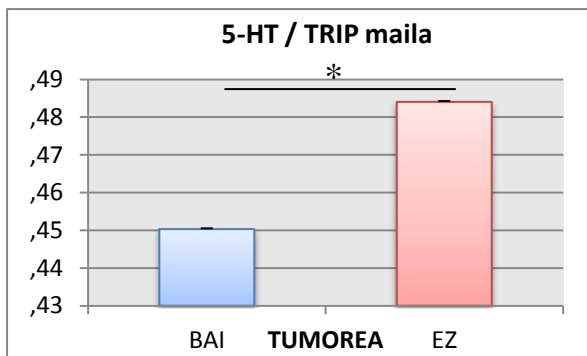
Emaitzen analisi estatistikoak SPSS 22.0 edizioa erabiliz burutu ziren.  $p < 0,05$  esangura-maila ezarri zen, eta analisiak 2 faktorezko ANOVA eta analisi unibariatu bidez gauzatu ziren.

3.2 Emaitzak

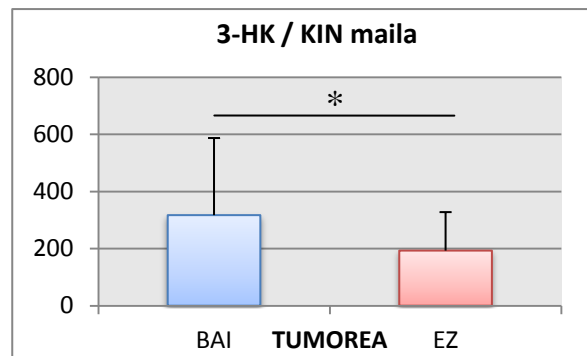
Tumorea inokulatu zitzairen saguek 5-HT/TRIP ratio baxuagoa ( $F=4,291$ ;  $p=0,040$ ) eta 3-HK/KIN ratio altuago ( $F=6,100$ ;  $p=0,015$ ) zuten hipokanpoan.

Gainera estresaturiko saguen artean tumorea zutenek sakarosarekiko preferentzia baxuagoa ( $F=5,147$ ;  $p=0,026$ ) azaldu zuten. Ereku irekiko frogan berriz, estresa jasan ez zuten saguen artean tumoredunek denbora gehiago iragan zuten geldirik ( $F =4,364$ ;  $p= 0,048$ ).

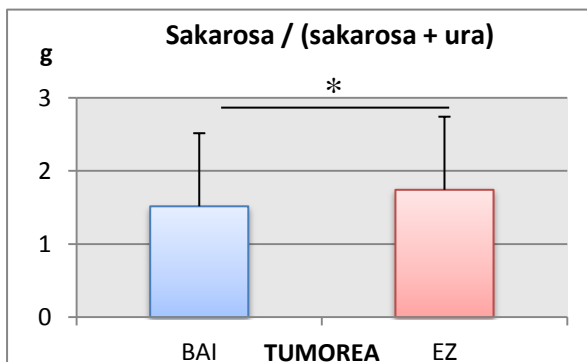
1.grafikoa. Hipokanpoko 5-HT/TRIP maila. \* $p<0,05$ .



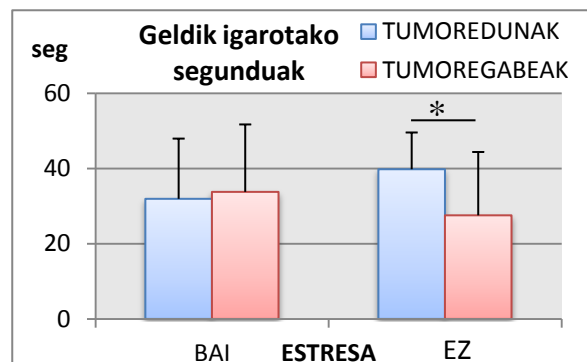
2.grafikoa. Hipokanpoko 3-HK/KIN maila. \* $p<0,05$ .



3.grafikoa. Sakarosarekiko preferentzia sagu estresatuetan. \* $p<0,05$ .

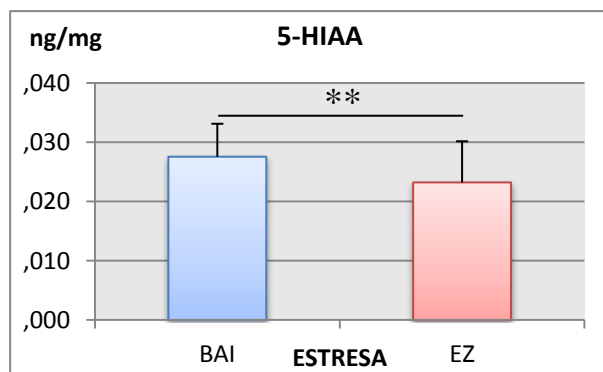


4.grafikoa. Ereku irekiko frogan geldirik igarotako denbora. \* $p<0,05$ .



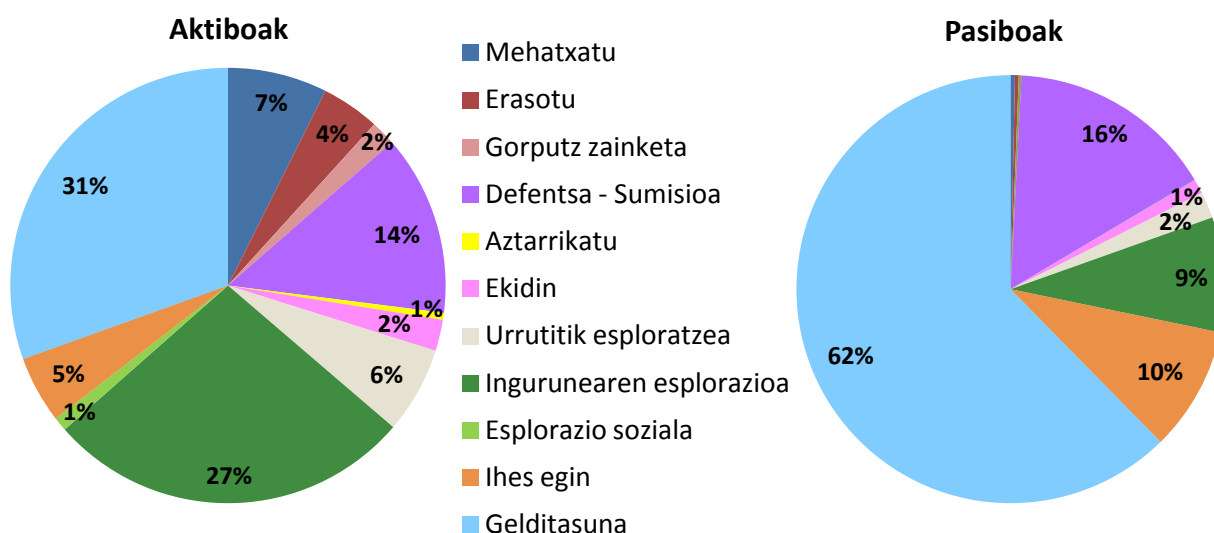
Estresak bere aldetik, hipokanpoko serotoninaren aktibitatean izan du eragina. Sagu estresatuek serotoninaren metabolito den 5-HIAA maila altuago zuten hipokanpoan ( $F=11,305$ ;  $p=0,001$ ).

5.grafikoa. Hipokanpoko 5-HIAA maila.  $**p<0,001$ .



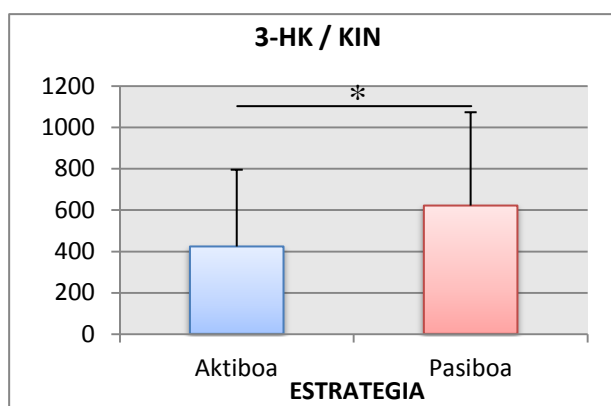
Estresaren aurrean erabilitako estrategien arabera bi talde osatu ziren. Ingurunea gehiago esploratu eta aurkaria gehiago mehatxatu zuten saguek talde aktiboa osatu zuten, talde pasiboa aldiz, geldik eta defentsa–sumisio jokoeretan denbora gehiago iragan zuten saguez osatu zen.

6. eta 7. grafikoak. Sagu aktibo eta pasiboen jokoerak ehunekotan.



Estresari aurre egiteko estrategien artean ere desberdintasun esanguratsuak aurkitu ziren. Hala, sagu pasiboek nukleo estriatuan 3-HK/KIN ratio altuagoa ( $F=5,789$ ;  $p=0,017$ ) zuten sagu aktiboekin alderatuz.

8.grafikoa. Estriatuko 3-HK/KIN maila.  $*p<0,05$



#### 4. Ondorioak

Emaizten arabera, tumoreak aldaketak eragingo lituzke serotoninaren sintesian. Tumoredun saguek triptofano gutxiago erabili dute hipokanpoan serotoninaren sintesirako, eta honen azalpena triptofanoa kinureninaren bidetik degradatu izana litzateke. Gainera, ondorengo emaitzek hipotesi hau indartuko lukete. Tumoredun subjektuek tumoregabeek baino azido kinolinikoaren aurrendari den 3-HK maila altuagoa dutenez, tumoreak kinureninaren bide toxikoa aktibatu duela ondoriozta genezake. Eskuratutako emaitzek bide hori iradokitzen duten arren, azido kinolinikoaren inguruko datuak beharko genituzke hipotesia baieztatzeko. Jokaerari dagokionez, aldaketa biologikoek jokabide depresiboaren ezaugarri diren jokamoldeak bultzatu dituztela esan genezake. Alde batetik, tumoredun saguek anhedoniaren sintoma litzatekeen sakarosarekiko preferentzia txikiagoa azaldu dute, eta bestetik, estresaturik ez zeuden subjektuen artean, tumoredunek denbora gehiago igaro dute geldirik. Hortaz, tumoredun saguek depresioaren sintoma diren jokabide gehiago azaldu dituzte.

Estresak berriz, hipokanpoko serotoninaren metabolitoen (5-HIAA) maila handitu duenez, bertan serotonina aktibitatea areagotu egin duela esan genezake. Estresak berak, aldiz, ez du jokaera mailan aldaketarik eragin, baina estresaren aurrean izandako jokaerak, hau da, sagu aktibo edo pasibo izateak, eragina izan du estriatuko 3-HK/KIN ratioan. Sagu pasiboek 3-HK maila altuagoa azaldu dute KIN mailarekiko, eta horrek, tumoreak bezala, estrategia pasiboa izateak bide toxikoa aktibatu duela adierazten du. Hortaz, jokaera aktiboagoak garunean neurotoxizitate maila baxuagoa izatea eragingo luke.

#### 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Tumore zein estresak garunean eragindako aldaketa batzuk aztertu ostean, garuneko estruktura hauetan eta odolean zitokina mailak zehaztea da hurrengo urratsa, datorren hilabeteetan burutuko duguna. Horrekin, zitokinek garunean zein jokabidean ikusitako aldaketekin duten erlazioa aztertu ahal izango dugu.

Gainera, tumorea garunean aldaketa neurokimikoak eta jokaera mailako aldaketak eragiteko gai den arren, minbizia duten guztiek ez dute depresio nahastea garatzen. Hortaz, gaixotasuna izanda ere, subjektuen arteko desberdintasunek depresio jokaerak garatzea edo ez garatzea eragin dezakete. Hori horrela izanik, subjektuen banakotasunak jokaera depresiboan garapenean duen eraginean sakontzea litzateke beste urrats garrantzitsu bat. Hau da, buru nahasteak garatzeko aukerak areagotzea edo murriztea zein ezaugarrik eragingo luketen aztertzea.

#### 6. Erreferentziak

- American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. (DSM-5®) American Psychiatric Pub.
- Arango, V., Underwood, M. D., Boldrini, M., Tamir, H., Kassir, S. A., Hsiung, S., eta Mann, J. J. (2001). Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. *Neuropsychopharmacology*, 25(6), 892-903.
- Bartolomucci, A., Palanza, P., Gaspani, L., Limiroli, E., Panerai, A.E., Ceresini, G., et al., 2001. Social status in mice: behavioral, endocrine and immune changes are context dependent. *Physiol. Behav.* 73, 401–410.
- Curfs, J. H., Meis, J. F., eta Hoogkamp-Korstanje, J. A. (1997). A primer on cytokines: Sources, receptors, effects, and inducers. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 742-780.
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., eta Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 46-56.
- Evans, D. L., Charney, D. S., Lewis, L., Golden, R. N., Gorman, J. M., Krishnan, K. R. R., . . . Coyne, J. C. (2005). Mood disorders in the medically ill: Scientific review and recommendations. *Biological Psychiatry*, 58(3), 175-189.
- Gold, P., eta Chrousos, G. (2002). Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: High vs low CRH/NE states. *Molecular Psychiatry*, 7(3), 254-275.
- Gómez-Lázaro, E., Arregi, A., Beitia, G., Vegas, O., Azpiroz, A., & Garmendia, L. (2011). Individual differences in chronically defeated male mice: Behavioral, endocrine, immune, and neurotrophic changes as markers of vulnerability to the effects of stress. *Stress*, 14(5), 537-548.
- Haroon, E., Raison, C. L., & Miller, A. H. (2012). Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: Translational implications of the impact of inflammation on behavior. *Neuropsychopharmacology*, 37(1), 137-162.

- Hiles, S. A., Baker, A. L., de Malmanche, T., eta Attia, J. (2012). A meta-analysis of differences in IL-6 and IL-10 between people with and without depression: Exploring the causes of heterogeneity. *Brain, Behavior, and Immunity*, 26(7), 1180-1188.
- Jehn, C. F., Kuehnhardt, D., Bartholomae, A., Pfeiffer, S., Krebs, M., Regierer, A. C., . . . Flath, B. C. (2006). Biomarkers of depression in cancer patients. *Cancer*, 107(11), 2723-2729.
- Jin, C. eta Fall, D.J. (2013). Neuroimmunology: A comprehensive Strategy for Assessment of Patients with Sickness Behaviors. *BA, NeuroScience Inc.*
- Linden, W., Vodermaier, A., MacKenzie, R., eta Greig, D. (2012). Anxiety and depression after cancer diagnosis: Prevalence rates by cancer type, gender, and age. *Journal of Affective Disorders*, 141(2), 343-351.
- Maes, M. (1995). Evidence for an immune response in major depression: A review and hypothesis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 19(1), 11-38.
- Maes, M., Leonard, B., Myint, A., Kubera, M., eta Verkerk, R. (2011). The new '5-HT' hypothesis of depression: Cell-mediated immune activation induces indoleamine 2, 3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(3), 702-721.
- Maes, M., eta Meltzer, H. (1995). The serotonin hypothesis of major depression. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*, 10, 933-934.
- Schildkraut, J. J. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: A review of supporting evidence. *American Journal of Psychiatry*, 122(5), 509-522.
- Widner, B., Ledochowski, M., eta Fuchs, D. (2000). Interferon gamma induced tryptophan degradation neuropsychiatric and immunological consequences. *Current Drug Metabolism*, 1(2), 193-204.
- World Health Organization. (2017a). *Depression and Other Common Mental Disorders. Global Health Estimates*. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
- World Health Organization. (2017b). *Cancer*. WHO 2017. [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>]

## 7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa hau Eusko Jaurlaritzaren Ikertzaileak Prestatzeko Doktoretza-aurreko bekari (PRE\_2015\_1\_0085) eta Espainiako Ekonomia eta Lehiakortasun Ministerioaren proiektuari (PSI2015-63658-R) esker burutu da. Egileek UPV/EHU-ko SGikerren giza babesa eta teknikoa eskertzen dute.

Ikerkuntza lagundu duten Garikoitz Beitia, Eneritz Gómez-Lázaro, Arantxa Azpiroz, Amaia Arregi eta Joana Pérez-Tejadari gure eskerrik beroenak.