

Tumoreek, estres sozialak eta estresari aurre egiteko estrategiek jokabide depresiboan eta garunaren aktibitatean duten eragina

Effect of tumor, social stress and stress-coping strategies on depressive-like behavior and brain activity

Olatz Goñi-Balentiaga, Oscar Vegas, Ainitze Labaka eta Larraitx Garmendia

*Psikobiologia arloa. Oinarrizko Psikologia Prozesuak eta Garapena Saila,
Psikologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea.
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 izan du helburu ikerketa honek. Horretarako, *Oncins France 1 (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 estrategia pasiboak dituzten saguetan ere azaldu da. Jokaerari dagokionez, tumoreak sakarosarekiko preferentzia txikitu eta eremu irekiko proban gelditasuna handitu ditu. Ondorioz, tumoreak bide toxikoa aktibatu eta jokaera depresiboak areagotu dituela adierazten dute datuek.

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

Abstract

Depression is associated with both cancer and social stress, but mechanisms underlying this relation are still inconclusive. Thus, we analyzed the effects of tumor and stress on brain activity. Oncins France 1 (OF1) male mice were inoculated with B16F10 melanoma tumor cells and a subgroup was exposed to social stress. We found that the presence of the tumor was associated with reduced levels of brain serotonin and increased levels of the neurotoxin 3-hydroxykynurenine (3-HK). This effect was also seen in mice using a passive coping strategy. Furthermore, the presence of a tumor was found to be associated with a decreased preference for sucrose and increased immobility in the open field test. These findings suggest that the kynurenine neurotoxic pathway is activated by the tumor which may, in turn, contribute to the appearance of depressive-like behaviour.

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

Bidalia: 2017ko maiatzaren 23ean.

Onartua: 2017ko ekainaren 7an.

Ikerketa osasun arloan saritutako lana

<http://doi.org/10.26876/osagaiz.1.2017.80>

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 dagokienez, Europan bigarren postuan dago, eta Ameriketako Estatu Batuetan dagoeneko lehenengo lekua hartu du (1).

Garai bereko gaitz bat aipatzekotan, berriz, minbizia nabarmenduko genuke. Munduan hildako gehien eragiten duen 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 (2).

Bi nahasteek harreman estua dute. Hainbat ikerketaren arabera, nahaste depresiboen prebalentzia hirukoitza da minbizia igaro duten gaixoetan (3). Hori azaltzen duten hainbat aldagai daude. Alde batetik, ezin da ahaztu minbiziaren diagnosiak eragindako estres-egoerak depresio-jokabidea garatzeko aukerak areagotu egiten dituela, baina badira beste arrazoi biologiko batzuk. Minbiziari aurre egiteko, organismoak immunitate-sistema aktibatu eta hanturazko zitokinak jariatzen ditu. Azken horiek depresio-nahasteetan duten garrantzia nabarmena da (4) eta, hortaz, depresio-nahasteen hanturazko hipotesia da gure aztergaia.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Depresio-nahasteek DSM-5 eskuliburuko kategoria nagusi bat osatzen dute, eta bertan, honako sintoma hauek aipatzen dira diagnosis egiteko: gogo-aldarte deprimitua egunaren zati handiengan, pisu-galtze edo irabazte nabarmena, insomnioa edo hipersomnia, nekea edo energia-galera, pentsatzeko eta arreta mantentzeko gaitasunen beherakada, plazeraren eta interesaren beherakada nabarmena (anhedonia), eta abar (5).

Azken hamarkadetan, depresioaren inguruko ikerketak ugaritu arren, nahastearen etiologiaren inguruko datuak osatugabeak dira oraindik. Hipotesi nagusietariko bat hanturazko hipotesia da (6), 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 (7).

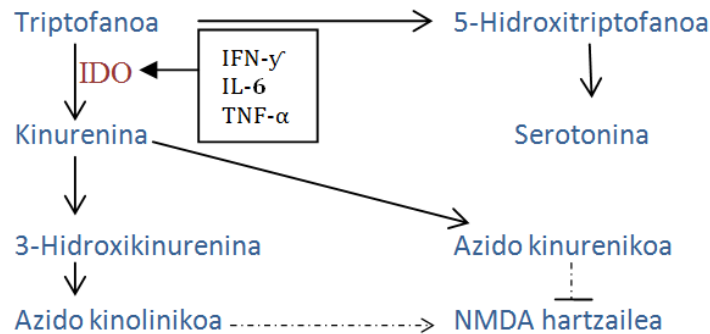
Hainbat ikerketak hantura-faktoreen eta depresioaren larritasunaren arteko korrelazioa antzeman dute (8). Gainera, hantura-prozesuak garatzen dituzten gaitzek (minbiziak, besteak beste) depresio-nahasteekin intzidentzia handiagoa dutela ikusi da (9). Estresaren eta depresioaren arteko harremana ere oso estua da, batez ere, estres soziala bada. Hainbat autorek diotenaren arabera, estres-egoeretan askatutako glukokortikoiden erregulazio okerra gauzatzean, depresio-jokabidea eragingo luketen prozesu biologikoak areagotu egiten dira (10). Hala ere, estres-egoeren aurrean ez dugu denok berdin erantzuten, eta norbanakoen estrategia ezberdinek uste dugun baino zerikusi handiagoa izan dezakete gure garunean, estresak eragiten dituen ondorioak baldintzatu baititzakete (11).

Zitokinek zenbait bidetatik eragin ditzakete jokabide-aldaketak:

- Hipotalamo-Pituitario-Adrenal (HPA) ardatza: HPA ardatzaren jarduera handia atzeman da depresio-nahastea duten pertsonengan. Zitokinek ardatzaren aktibitatea handitu eta horren funtzionamendu okerra eragiten dute. Gainera, bertan jariatzen den kortikotropina askatzailearen hormona depresio-nahasteekin erlazionatuta dago, eta honako eragin hauek ditu: antsietatea areagotzea, erantzuteko gaitasun-murrizketa, alterazio psikomotorrak, loan aldaketak, apetitu- eta libido-galerak, eta narriadura kognitiboa (12).

- Neurotransmisioa: depresioaren inguruko lehen ikerketek ondorioztatu zuten depresioa setononina-mailaren beherakadak eragiten zuela (13). Geroago burututako beste ikerketek, ordea, neurotransmisore horren hartzaile eta garraiatzaileei egotzi zieten jokaera-aldaketan ardura (14). Horien ondorioz, serotonina eta haren aurrendari den triptofanoaren maila baxuagoak atzeman dira depresio-nahastea duten pertsonengan (15). Zitokinek eragin zuzena dute serotoninaren gutxitzean, molekula horiek indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO) entzima aktibatuz (16), triptofanoa kinureninaren deribatuetan degradatzea eragiten baitu (17). Hortaz, triptofano kopuru murriztagoa izango da serotonina sintetizatzeke, serotoninaren beheraka eraginez.
- Neurotoxizitatea: aurreko atalean aipatu bezala, zitokinek IDO aktibatzean kinureninaren deribatuen produkzioa areagotu egiten da. Bi dira kinureninaren deribatuak (18): funtzio babeslea duen azido kinurenikoa eta neurotoxikoa den azido kinolinikoa. Azken horrek garunaren neurodegenerazioan eragina du, jokabide-aldaketak eraginez (19).

1. irudia. Triptofanoaren degradazio-prozesuak: Laburdurak: IDO, indolamina 2,3 dioxigenasa entzima; IFN- γ , gamma interferoia; IL-6, interleukina 6; TNF- α , tumorearen alfa nekrosi-faktorea (20).



Hanturazko zitokinen eta depresioaren arteko harremana baieztatzen duten datuak izan arren, depresioaren kontrako hainbat farmakok ez dute substantzia hori ardatz hartzen. Norabide horretan esku hartuko luketen farmako berriak aurkitzeko zailtasun nagusia zera da: zitokinek depresioa eragiteko duten prozeduren inguruko informazio osatua falta izatea. Hori dela-eta, mekanismo horien inguruko ikerketa gehiago beharko lirateke.

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 horiek jarraituko duten bidea zehaztu nahi da. Horretarako, honako helburu zehatz hauek landuko dira:

- Melanoma tumoreak (B16F10) eta estresak jokabide depresiboan dituzten ondorioak aztertzea. Jokabide depresibo sakarosarekiko preferentzia-testaren (Sucrose Preference Test: SPT), eremu irekiko probaren (OFT: Open Field Test) eta behartutako igeriketa-probaren (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 haien metabolitoak; azido 5-hidroxiindoleazetikoa (5-HIAA), kinurenina (KIN) eta 3-hidroxi kinurenina (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.

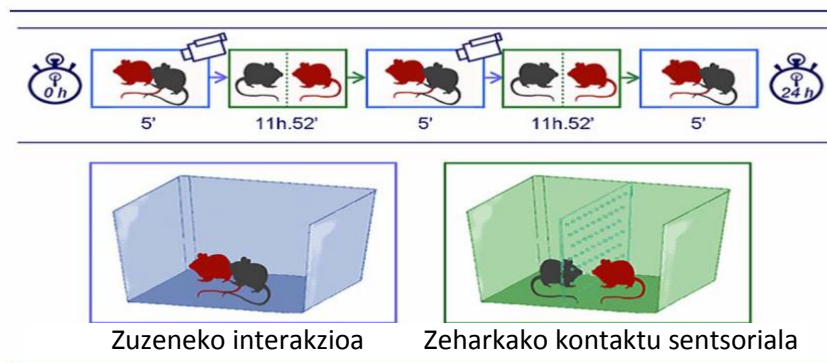
3. Ikerketaren muina

3.1. Ikerketaren diseinua

Ikerketa aurrera eramateko, honako esperimentu hau gauzatu zen:

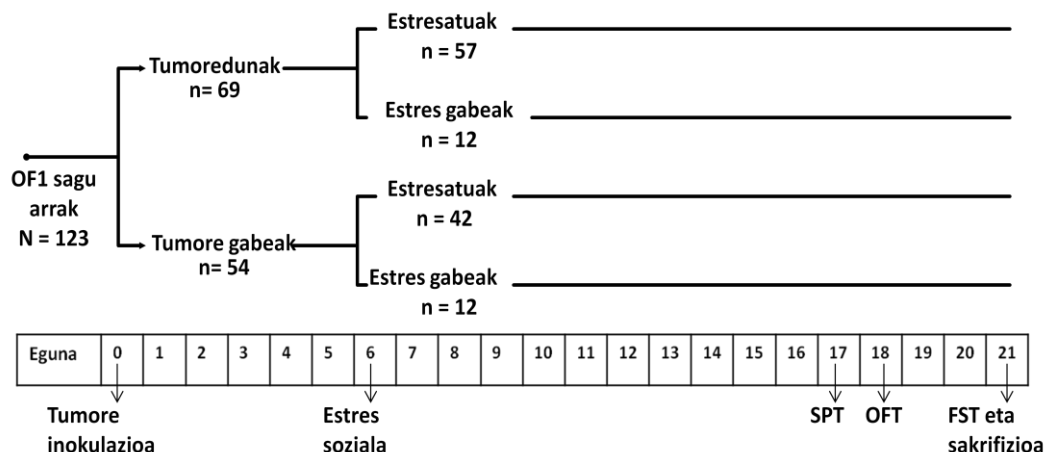
OF1 sagu arren talde bati B16F10 melanoma-tumorearen zelulak inokulatu zitzaizkion eta 6 egun geroago, azpitalde bati estres soziala eragin zitzaion kontaktu sensorialaren ereduaren bidez. Horretarako, saguak agresibitate-maila altuko beste sagu baten kaxan sartu ziren 24 orduz. Denbora horretan, zuzeneko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

2. irudia. Sagui estres soziala eragiteko kontaktu sensorialaren eredu.



Inokulazio-egunetik 17 egunera, jokabide depresiboa neurtzeko probak hasi ziren. Lehenengo SPT proba 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 geldi iragandako denborak eskuratu ziren, FST probaren bidez. Segidan, saguak sakrifikatu ziren, odola eta garuneko hipokampo 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.



Laburdurak: SPT, sakarosarekiko preferentzia-testa; OFT, eremu irekiko proba; FST, igeriketa behartuko proba.

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

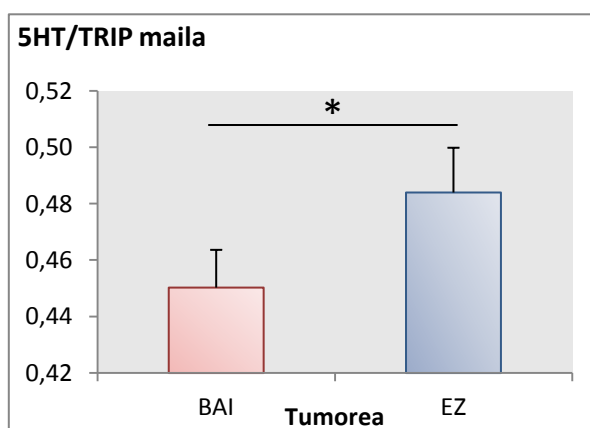
3.2. Emaitzak

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

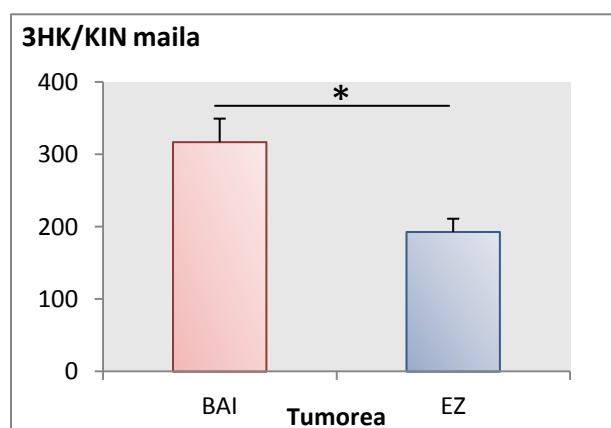
Gainera estresaturiko saguen artean tumorea zutenek sakarosarekiko preferentzia baxuagoa ($F=4,583$; $p=0,035$) azaldu zuten. Ereku irekiko proban, berriz, estresa jasan ez zuten saguen artean tumoredunek denbora gehiago iragan zuten geldirik ($F=4,364$; $p=0,048$).

Jatorrizko artikulua

1. grafikoa. Hipokanpoko 5-HT/TRIP maila.

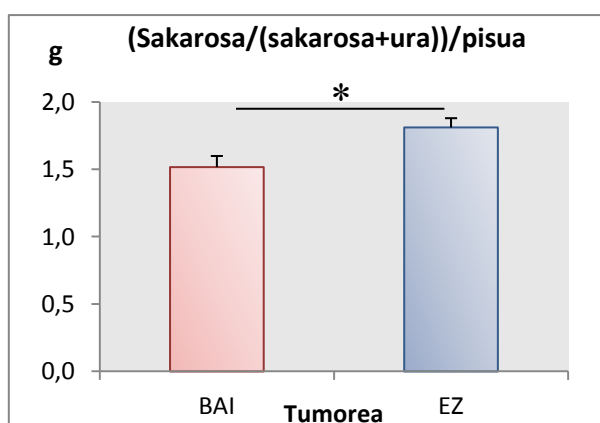


2. grafikoa. Hipokanpoko 3-HK/KIN maila.



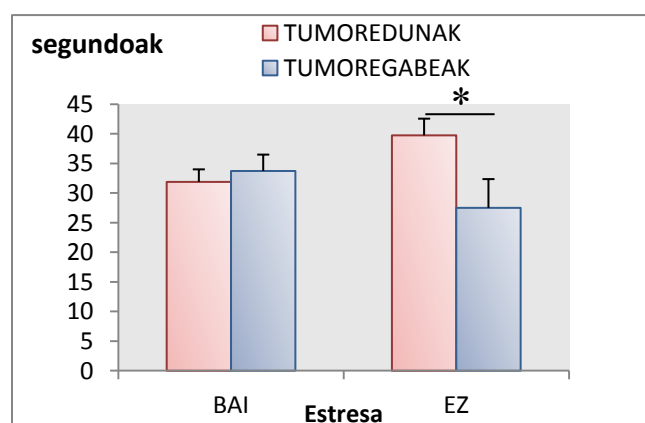
* $p < 0,05$. Laburdurak: 5HT, serotonina; TRIP, triptofanoa; 3HK, 3-hidroxikinurenina; KIN, kinurenina.

3. grafikoa. Sakarosarekiko preferentzia sagu estresatuetan.



* $p < 0,05$.

4. grafikoa. Ereku irekiko proban geldirik igarotako denbora.

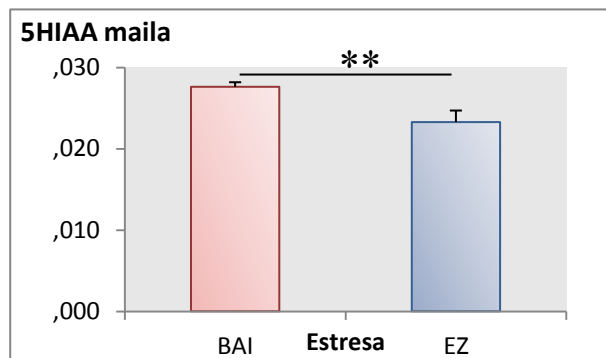


* $p < 0,05$.

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

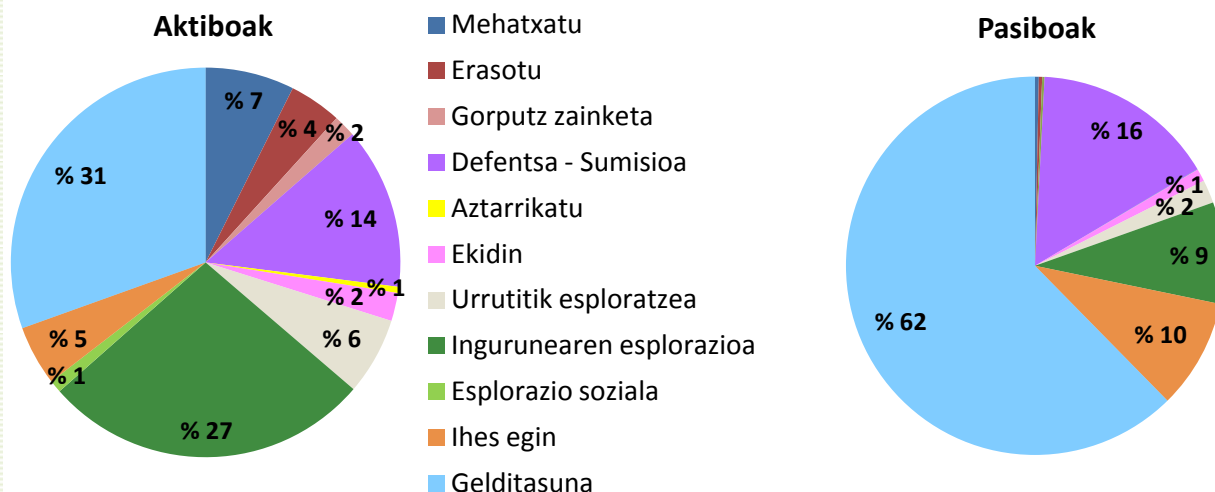
5. grafikoa. Hipokanpoko 5-HIAA maila.

**p<0,001. Laburdurak: 5HIAA, azido 5-hidroxiindoleazetikoa.



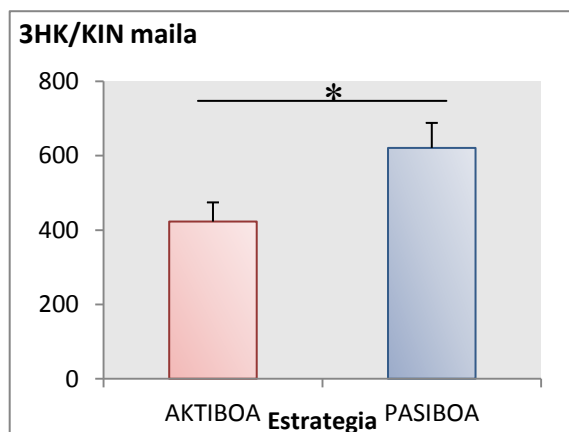
Estresaren aurrean erabilitako estrategien arabera, bi talde osatu ziren. Ingurunea gehiago esploratu eta aurkaria gehiago mehatxatu zuten saguek talde aktiboa osatu zuten; talde pasiboa, aldiz, geldirik eta defentsa-sumisio jokaeretan denbora gehiago iragan zuten saguez osatu zen.

6. eta 7. grafikoa. Sagu aktiboaren eta pasiboaren jokaerak 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 alderatuta.

8. grafikoa. Estriatuko 3-HK/KIN maila.



*p<0,05. Laburdurak: 3HK, 3-hidroxikinurenina; KIN, kinurenina.

4. Ondorioak

Emaitzen arabera, tumoreak aldaketak eragingo lituzke serotoninaren sintesian. Tumoredun saguek triptofano gutxiago erabili dute hipokanpoan serotoninaren sintesirako, eta horren azalpena triptofanoa kinureninaren bidetik degradatu izana litzateke. Gainera, ondorengo emaitzek hipotesi hori 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 Jatorrizko artikulua

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

Tumoreek zein estresak garunean eragindako aldaketa batzuk aztertu ostean, garuneko egitura horietan eta odolean zitokina-mailak zehaztea da hurrengo urratsa, datorren hilabeteetan egingo duguna. Horrekin, aztertu ahal izango dugu zer erlazio duten zitokinek garunean zein jokabidean ikusitako aldaketekin.

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 depresiboen garapenean duen eraginean sakontzea litzateke beste urrats garrantzitsu bat. Hau da, buru-nahasteak garatzeko aukerak areagotzea edo murriztea zein ezaugarrik eragingo luketen aztertzea.

6. 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/EHUko SGIkerren giza babes eta babes teknikoak eskertzen dute.

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

7. Erreferentzia bibliografikoak

1. World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders. Global Health Estimates. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

2. World Health Organization [Internet]. Cancer Fact sheet. Geneva: World Health Organization; 2017 [cited 2017-5-25]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
3. Linden W, Vodermaier A, MacKenzie R, Greig D. Anxiety and depression after cancer diagnosis: Prevalence rates by cancer type, gender, and age. *J Affect Disord.* 2012 Dec 10;141(2–3):343–51.
4. Jehn CF, Kuehnhardt D, Bartholomae A, Pfeiffer S, Krebs M, Regierer AC, Schmid P, Possinger K, Flath, BC. Biomarkers of depression in cancer patients. *Cancer.* 2006; 107(11): 2723-2729.
5. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. Washington: American psychiatric association; 2013.
6. Maes M. Evidence for an immune response in major depression: A review and hypothesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1995 Jan;19(1):11-38.
7. Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Korstanje JA. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev.* 1997 Oct;10(4):742-80.
8. Hiles SA, Baker AL, de Malmanche T, Attia J. A meta-analysis of differences in IL-6 and IL-10 between people with and without depression: exploring the causes of heterogeneity. *Brain Behav Immun.* 2012 Oct;26(7):1180-8. doi: 10.1016/j.bbi.2012.06.001
9. Evans DL, Charney DS, Lewis L, Golden RN, Gorman JM, Krishnan KRR, et al. Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. *Biol Psychiatry.* 2005 Aug 1;58(3):175-89.
10. Gómez-Lázaro E, Arregi A, Beitia G, Vegas O, Azpiroz A, Garmendia L. Individual differences in chronically defeated male mice: behavioral, endocrine, immune, and neurotrophic changes as markers of vulnerability to the effects of stress. *Stress.* 2011 Sep;14(5):537-48. doi: 10.3109/10253890.2011.562939.
11. Bartolomucci A, Palanza P, Gaspani L, Limiroli E, Panerai AE, Ceresini G, Poli MD, Parmigiani S. Social status in mice: behavioral, endocrine and immune changes are context dependent. *Physiol Behav.* 2001 Jun;73(3):401-10.
12. Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry.* 2002;7(3):254-75.
13. Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry.* 1965 Nov;122(5):509-22.
14. Arango V, Underwood MD, Boldrini M, Tamir H, Kassir SA, Hsiung S, Mann JJ. Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. *Neuropsychopharmacology.* 2001; 25(6): 892-903.
15. Maes M, Meltzer H. The serotonin hypothesis of major depression. In: *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* [Internet]. New York: Raven Press; 1995 [cited 2017-05-25] Available from: <https://www.acnp.org/g4/GN401000094/Default.htm>
16. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci.* 2008 Jan;9(1):46-56.
17. Widner B, Ledochowski M, Fuchs D. Interferon-gamma-induced tryptophan degradation: neuropsychiatric and immunological consequences. *Curr Drug Metab.* 2000 Sep;1(2):193-204.
18. Maes M, Leonard B, Myint A, Kubera M, Verkerk R. 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. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011 Apr 29;35(3):702-21. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.12.017.
19. Haroon E, Raison CL, Miller AH. Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. *Neuropsychopharmacology.* 2012 Jan;37(1):137-62. doi: 10.1038/npp.2011.205.

20. Jin C, Fall DJ. Neuroimmunology: A comprehensive strategy for assessment of patients with sickness behaviors. Townsend Letter, the Examiner of Alternative Medicine [Internet]. 2013 June [cited 2017-05-25] Available from: <http://www.townsendletter.com/June2013/neuro0613.html>