

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

REGULACIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA
EN UN MODELO ANIMAL DE DEPRESIÓN.

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :
MAESTRO EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL
P R E S E N T A :
BIOL. EXP. HERLINDA BONILLA JAIME**

**TUTOR: DR. JAVIER VELÁZQUEZ MOCTEZUMA
ASERORES: DRA. SOCORRO RETANA MARQUEZ
DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO.**

La Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, se encuentra dentro del padrón de programas de posgrado de excelencia del Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología con Número de Registro: 309-0.

El presente trabajo fue realizado gracias a la beca-crédito otorgada por el CONACyT, Número de Registro: 11504

Una vez...él escribió un poema
Y lo llamó "Chops",
Porque así se llamaba su perro, y
Porque de eso se trataba.
Y el maestro le dio un sobresaliente
Y una estrella de oro
Y su madre lo colgó en la puerta de la cocina
Y se lo leyó a todas las tías...

Una vez...escribió otro poema.
Y lo llamo "Inocencia con signo de interrogación",
Porque así se llamaba su pena, y
Porque de eso se trataba.
Y el profesor le dio un sobresaliente
Y una mirada extraña y fija.
Y su madre jamás lo colgó en la cocina
Porque él jamás se lo enseñó...

Una vez, a las tres de la madrugada...probó con otro poema...
Y no lo llamo de ninguna manera,
Porque de eso se trataba
Y se dió a sí mismo un sobresaliente
Y un tajo en cada muñeca húmeda
Y lo colgó en la puerta del baño
Porque no pudo llegar a la cocina.

(Escrito por un muchacho de quince años, dos años antes de suicidarse)

CRÉDITOS

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Neurociencias del Departamento de Biología de la Reproducción perteneciente a la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, adscrita a la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana.

El Tutor de la tesis fue el **Dr. Javier Velázquez Moctezuma**, Jefe del Laboratorio de Neurociencias.

La cuantificación de hormonas esteroides se realizó gracias al apoyo y ayuda de la **Dra. Socorro Retana Márquez**.

DEDICATORIA

A DIOS

Por su eterna misericordia, porque siempre me da amor, valor y paciencia. Porque sin Él nada de esto tendría sentido.

A GONZALO

A quien amo y admiro tanto, por su integridad, por sus principios y por tener la dicha de compartir mi vida con él. Gracias, TE AMO...

A MIS PADRES

Por su ejemplo, su valor ante la vida y porque gracias a ellos he llegado hasta aquí... Y simplemente porque los quiero mucho.

A MIS HERMANOS

Por tener la dicha de quererlos tanto y porque siempre me ayudaron en los momentos difíciles...

A MIS SOBRINOS

A Alicia: por su constancia, dedicación y tenacidad ante la vida; a Claudia: a quien tanto admiró porque enfrenta la vida con valor y una sonrisa; a Israel por su nobleza y sensibilidad; a Ezequiel, Becky y Daniel, quienes me han brindado lo mejor de la vida: su niñez y su inocencia...y porque día a día me siguen enseñando...

Y a los que padecen depresión.....

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Javier Velázquez Moctezuma** por hacer realidad esta tesis, por confiar en mí y por el apoyo que siempre me ha brindado.

A la **Dra. Socorro Retana Márquez** por su apoyo para realizar parte de la tesis, por su gran capacidad para investigar y por ser una mujer con una gran dignidad.

A la **Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio** por el esfuerzo y dedicación para mejorar este trabajo.

A **Emilio Domínguez Salazar** por su ayuda desinteresada en todo y siempre... y por enseñarme el verdadero valor de la amistad.

A mis compañeros del laboratorio: a **Armando, Adriana, y Pedro** quienes siempre traen una sonrisa a nuestras vidas.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Hipótesis acerca del origen de la depresión.....	3
Monoaminérgica.....	4
Colinérgica.....	6
Aspectos neuroquímicos de la depresión.....	7
Aspectos neuroendocrinos de la depresión.....	8
Modelos animales de depresión.....	11
Validez Predictiva.....	13
Validez Teórica.....	14
Validez de Apariencia.....	16
ANTECEDENTES	18
Conducta sexual masculina en la rata.....	20
Aspectos neuronales de la conducta sexual masculina.....	23
Aspectos neuroendocrinos de la conducta sexual masculina.....	25
Aspectos neuroquímicos de la conducta sexual masculina.....	26
Monoaminas.....	26
Serotonina.....	26
Noradrenalina.....	27
Dopamina.....	28
Acetilcolina.....	29
Planteamiento del problema.....	30
HIPÓTESIS	31
OBJETIVOS	32
MATERIAL Y MÉTODO	33
Pruebas conductuales.....	35
Conducta sexual masculina.....	35
Prueba de Porsolt o Nado forzado.....	35
Administración de Yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT.....	36
Determinación plasmática de corticosterona y testosterona.....	36
Análisis estadístico.....	37
RESULTADOS	38
Efecto de la administración neonatal de CLI en la conducta sexual.....	38
Efecto de la administración neonatal de CLI en la Prueba de Nado Forzado.....	43
Efecto de la administración de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT sobre la conducta sexual masculina	43
Determinación plasmática de corticosterona y testosterona.....	55
DISCUSIÓN	59
Efecto de la administración de CLI en la Conducta Sexual Masculina.....	59
Efecto de la administración de CLI en la Prueba de Porsolt.....	69
Efecto de la administración de CLI en los niveles plasmáticos de Corticosterona y Testosterona.....	
CONCLUSIONES	72
REFERENCIAS	74

RESUMEN

El tratamiento neonatal con clomipramina (CLI) en ratas produce, durante la edad adulta, alteraciones conductuales que semejan el cuadro clínico de la depresión que se presenta en seres humanos, por ello ha sido propuesto como un modelo animal de depresión. Las principales características conductuales inducidas mediante este tratamiento son: alteraciones en el patrón de sueño, disminución de la agresividad, alteración en la actividad motora, así como disminución de las conductas motivadas placenteras, entre las que destaca el deterioro de la conducta sexual masculina (Neill, 1990; Vogel et al, 1982, 1990). Además de mostrar un incremento en la inmovilidad en la prueba de nado forzado, prueba que permite detectar el estado depresivo del animal, lo que apoya la noción de que la cantidad de inmovilidad durante dicha prueba es directamente proporcional al estado depresivo en la rata (Velázquez-Moctezuma, 1992). Entre las alteraciones conductuales referidas, destacan las deficiencias que se presentan en la conducta sexual masculina que se caracterizan por presentar incremento en la latencia de monta, de intromisión y de eyaculación además de un menor número de montas e intromisiones, así como una menor frecuencia de eyaculación. Se ha postulado que los efectos de la CLI sobre las alteraciones de la conducta sexual en la rata macho podrían estar mediados por la participación de los diversos sistemas de neurotransmisión involucrados también en la regulación de la conducta sexual, como el sistema noradrenérgico, serotoninérgico y colinérgico, además de la participación de las hormonas esteroideas que participan en el mantenimiento de la conducta sexual, específicamente la testosterona. El interés del trabajo fue determinar el papel de los sistemas de neurotransmisión colinérgico, noradrenérgico y serotoninérgico, así como la participación de la testosterona y corticosterona en las alteraciones de la conducta sexual masculina y su posible validación del modelo animal de depresión. Se utilizaron ratas Wistar que fueron inyectadas neonatalmente con CLI o con solución salina. Cuatro meses después se evaluó la conducta sexual y la prueba de nado forzado para corroborar el estado depresivo del animal. Una vez corroboradas las alteraciones conductuales, ambos grupos (CLI y control) de animales se dividieron en dos grupos. Uno de ellos se utilizó para el análisis de la conducta sexual masculina con la administración de oxotremorina (agonista muscarínico), yohimbina (antagonista alfa-2), 8-OH-DPAT (agonista 5-HT1a) y solución salina, en una secuencia aleatoria y en dosis que se sabe estimulan la conducta sexual. Para las valoraciones conductuales los machos se colocaron en presencia de hembras receptivas y proceptivas durante 30 minutos. El otro grupo se utilizó para establecer los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona en condiciones basales con el fin de determinar el funcionamiento de los ejes neuroendocrinos hipotálamo-hipófisis-adrenal e hipotálamo-hipófisis gonada, respectivamente. Cada uno de los animales se decapitaron para la obtención del plasma, extracción de las hormonas esteroideas y su análisis por medio de HPLC. Los resultados muestran que el tratamiento neonatal con CLI en la rata macho afecta marcadamente diferentes aspectos de la conducta copulatoria al incrementar la latencia de monta (LM), de intromisión (LI), el número de montas (NM), el intervalo interintromisión (III), así como disminuir la frecuencia de eyaculación (FE) y la tasa de aciertos (TA). Por otro lado, la administración de los diferentes fármacos, yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT sobre la conducta sexual en las ratas control provocan efectos similares. Disminuyeron la LE, NM y el NI que preceden a la eyaculación, además de incrementar la FE. En el caso de la administración de los fármacos en las ratas CLI, la yohimbina restaura solamente un parámetro de la conducta sexual, la LE. De manera similar, el tratamiento con OXO solamente disminuye el NI. Sin embargo, la administración de 8-OH-DPAT no solamente restablece sino que estimula la conducta sexual al disminuir la LI y de eyaculación, el NM y el NI, además de incrementar la FE y la TA. Concerniente al tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado en las versiones de 15 y 5 minutos, se incrementaron en los animales tratados neonatalmente con CLI. En la medición de los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona no se detectaron diferencias. Estos resultados sugieren que la administración crónica de CLI en la etapa neonatal afecta la conducta sexual masculina a través de alterar los sistemas colinérgico y noradrenérgico o su interacción mutua en regiones que regulan la conducta sexual, como el área preóptica medial, sin afectar el funcionamiento basal de los ejes hipotálamo-hipófisis-adrenal e hipotálamo-hipófisis gonada.

INTRODUCCIÓN

El término depresión y los con el emparentados se han relacionado durante más de dos milenios a toda una serie de diferentes estados de aflicción. En alguna época, el término se refirió a un estado emocional de cierta duración, probablemente molesto, sin duda no acostumbrado, pero que no podía ser considerado como algo patológico. En otras ocasiones pudo significar un temperamento o un tipo de carácter con un determinado tono y una determinada disposición emocional pero tampoco patológicos. Otras veces tan solo una forma de sentir, de duración relativamente corta, de tono infeliz, pero difícilmente enfermiza, hasta que al fin, el término pudo denotar una enfermedad, un estado conflictivo suficientemente grave y duradero como para que se pensara en él como una seria patología, como actualmente se considera (Stanley, 1986). El amplio espectro de términos y las variaciones emocionales a que éstos se refieren, no suponen necesariamente una enfermedad mental o un estado psicopatológico. Sólo cuando estos sentimientos se prolongan o se agravan pueden empezar a considerarse como una enfermedad e incluso entonces, estos estados afectivos tendrán que ir acompañados de otros síntomas para que sean calificados como depresión endógena (Stanley, 1986).

La depresión se distingue clínicamente en dos tipos: la depresión reactiva que se define como una depresión originada por eventos de la vida externa que afectan el estado de ánimo del individuo y la depresión endógena, a la que nos referiremos en este trabajo, que se define como una depresión sin precipitante externo y generada por cambios bioquímicos en el sistema nervioso central (Mendels, 1968; Mendel, 1970; Williams, 1984; Neill, 1990; Vogel, 1990; Kandel, 1991).

La depresión endógena se caracteriza esencialmente porque los individuos presentan, durante un periodo de más de dos semanas, los dos síntomas principales: cambios en el estado de ánimo y anhedonia o en su caso, el sujeto puede experimentar al menos uno de los síntomas principales con cuatro de los síntomas considerados como datos secundarios (Nelson y Charney, 1981; DSM-IV, 1995; Cuadro 1), en conjunto estos datos son:

DATOS PRINCIPALES

- * Notorio estado de ánimo disfórico (estado en el que el sujeto no se siente bien, presenta ansiedad, nerviosismo e/o inquietud)
- * Anhedonia (generalizada pérdida de interés e incapacidad para experimentar placer).

DATOS SECUNDARIOS

- * Alteraciones del sueño (acortamiento de la latencia del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), incremento en la frecuencia de los períodos de MOR y una distribución temporal anormal del rebote de MOR seguido de la privación de sueño MOR (Kupfer,1976; Coble,1976; Vogel,1988).
- * Incremento o disminución del apetito.
- * Disminución de la libido.
- * Ideas suicidas.
- * Pensamientos de minusvalía.
- * Falta de energía.

Cuadro 1. Datos principales y secundarios para el diagnóstico de la depresión endógena

Existen además algunos signos que si bien no se presentan sistemáticamente, representan un apoyo importante para el diagnóstico de la depresión como son el avance de fase en los ritmos circadianos, el aumento en los niveles del cortisol plasmático e incapacidad de la dexametasona para suprimirlo (Gibbons y McHugh, 1962; Holsboer, 1983). Los síntomas característicos que acompañan esta enfermedad sugieren fuertemente la participación de varios sistemas de neurotransmisión, ya que muchos de ellos participan tanto en la expresión como en la regulación de varias de las conductas que acompañan a los trastornos afectivos (Sachar, 1985).

HIPÓTESIS ACERCA DEL ORIGEN DE LA DEPRESIÓN

Existen diferentes hipótesis acerca de la depresión endógena surgidos de diferentes

hallazgos, cada una de ellas involucra la participación de uno o varios de los sistemas de neurotransmisión conocidos e inclusive, en algunos casos, la interacción entre ellos y con diferentes sistemas neuroendocrinos.

Hipótesis Monoaminérgica

Una de las hipótesis más aceptadas acerca de la naturaleza de la depresión es la que involucra una deficiencia funcional en las aminas biogénicas (Kandel y Schwartz, 1991; Feldman et al, 1997). La hipofunción de más de una vía neural, como la noradrenérgica y la serotoninérgica, se han considerado como las causas de la depresión (Van de Kar, 1989).

Esta idea se ha derivado de estudios relacionados con los efectos de varias drogas sobre los sistemas cerebrales mencionados. La primera evidencia para la hipótesis de las aminas biogénicas se remonta a las observaciones realizadas en 1950 sobre la reserpina, un alcaloide obtenido de la *Rauwolfia*, usada ampliamente para el tratamiento de la hipertensión, la cual precipitaba un síndrome depresivo en aproximadamente 15% de los pacientes tratados. Esto tenía paralelo con los estudios en animales, en los cuales la reserpina producía un síndrome similar a la depresión, que consistía en retardo motriz y sedación. Poco antes de estas observaciones se demostró que la reserpina inactivaba la formación de vesículas intracelulares de almacenamiento de aminas y que por esta causa los neurotransmisores liberados en el citoplasma se encontraban desprotegidos y se volvían vulnerables a la degradación por la enzima monoaminoxidasa (MAO), en consecuencia, las concentraciones de serotonina y noradrenalina disminuían considerablemente (Kandel y Schwartz, 1991).

Originalmente los inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) -como la iproniazida- fueron sintetizados y utilizados en el tratamiento de la tuberculosis para más tarde establecerse como efectivos antidepresivos. Estos compuestos incrementan las concentraciones de serotonina y noradrenalina cerebral al disminuir su degradación por la MAO. En el transcurso de los tratamientos clínicos se observó que algunos pacientes tuberculosos deprimidos experimentaban elevación del ánimo cuando eran tratados con la iproniazida. Otro importante apoyo a la hipótesis fue el descubrimiento de los compuestos tricíclicos (clorimipramina, imipramina, amitriptilina, etc.) que bloquean la recaptura de las monoaminas desde el espacio

sináptico, prolongando así el período en el cual tales neurotransmisores persisten en su efecto sobre las neuronas postsinápticas (Kandel y Schwartz, 1991).

Los estudios realizados para la determinación de los niveles de monoaminas y sus metabolitos apoyan también de manera importante la hipótesis monoaminérgica. Entre los resultados más relevantes de estos estudios se encuentran los bajos niveles de serotonina cerebral encontrados en suicidas depresivos comparados con los controles no suicidas. Tales disminuciones van del 11 al 30 % en tronco cerebral y en dos de los seis núcleos del *rafé* respectivamente (Meltzer y Martin, 1987). En el caso del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), el principal metabolito de la serotonina, los resultados no son concluyentes, sin embargo, suicidas con historias de trastornos afectivos muestran niveles inferiores a los controles (Meltzer y Martin, 1987; Geraciotti et al, 1997). En el caso del 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG), el principal metabolito de la noradrenalina en el cerebro humano, las mediciones en orina realizadas en pacientes con episodios depresivos, tanto con depresión primaria como maníaco depresivos, muestran disminución de éste metabolito durante dichos episodios (Kopin et al, 1983; Post et al 1984 ; Siever, 1987). De manera similar, los niveles de MHPG se han encontrado significativamente disminuídos en el líquido cefaloraquídeo (LCR) lumbar en relación a los individuos controles, relacionándose esta información directamente con los niveles en orina. Estos niveles se incrementan cuando los pacientes depresivos son tratados con antidepresivos tricíclicos como la imipramina o desmetilimipramina, así como durante la etapa de reestablecimiento en pacientes tratados con electroshocks (Roy et al, 1985; Katz et al, 1994).

De la misma manera, la dopamina junto con sus metabolitos, sobre todo el ácido homovanílico (HVA), se han encontrado disminuídos en el LCR lumbar. En estudios post-mortem de los pacientes deprimidos que fallecieron por causas ajenas al suicidio se encontraron niveles inferiores de dopamina tanto en el núcleo estriado, como en el *rafé* y el núcleo rojo. Por otro lado, algunos estudios reportan incremento en la concentración de HVA en el LCR de pacientes deprimidos, sugiriendo una disfunción en el recambio de la dopamina en la depresión (Gjerris et al, 1987).

Hipótesis Colinérgica

A pesar de lo anterior, Janowsky y cols (1972; 1987; 1995) propusieron una explicación alternativa al origen de la depresión endógena. Ellos sugirieron que la depresión es originada por una hiperfunción del sistema colinérgico. Esto se ha evidenciado por la capacidad de los compuestos anticolinesterásicos y otros colinomiméticos de producir efectos conductuales característicos de los síndromes depresivos y alterar variables neuroendocrinas y polisomnográficas en una dirección semejante a la depresión endógena (Steven, 1986, Janowsky y Overstreet, 1995). Diversos trabajos han mostrado una supersensibilidad del sistema colinérgico en sujetos con enfermedades afectivas. Además, se ha observado que los agentes antimuscarínicos tienen propiedades antidepresivas notables que, sin embargo, necesitan una mayor evaluación (Steven, 1986). Es importante subrayar que la supersensibilidad del sistema colinérgico puede ser un factor etiológico en las enfermedades afectivas, primero por el desarrollo de tolerancia a agentes anticolinérgicos y segundo, porque es probable que sea uno de muchos factores causales. Los defectos de la capacidad hedónica en los desórdenes afectivos y los papeles de los mecanismos colinérgicos en la regulación de tales capacidades, en animales, son consistentes con la hipótesis del estado de hiperfuncionalidad colinérgica, lo cual puede producir anhedonia (Steven, 1986; Janowsky y Overstreet, 1995).

Es importante resaltar que los hallazgos realizados en seres humanos y en los diferentes modelos animales han sugerido que los sistemas neuronales monoaminérgicos, colinérgicos y vinculación entre sí y con otros sistemas de neurotransmisión puedan ser de importancia en la mediación de diversas funciones alteradas en los trastornos afectivos (Morris et al, 1978). En todo caso es preciso realizar más estudios para confirmar estos hallazgos y para analizar su significado fisiológico y clínico. En general, parece que los hallazgos de los recientes estudios sobre el metabolismo de las monoaminas en los trastornos afectivos apoyan fuertemente la idea, sugerida hace más de una década, de que la heterogeneidad clínica de los trastornos depresivos esté relacionada con las diferencias en el metabolismo de las monoaminas y las investigaciones futuras podrían aportar evidencias de la participación de cada una de las monoaminas en dichos trastornos.

ASPECTOS NEUROQUÍMICOS DE LA DEPRESIÓN.

Las aminas biogénicas juegan un papel central en las teorías acerca de la etiología de la depresión. Acorde con esto, el sistema serotoninérgico tiene un papel en la homeostasis principalmente, ayudando al organismo a modular estímulos excesivos, generalmente tiene una influencia inhibitoria sobre la conducta o un efecto moduladorio general (Vogt, 1982). Considerables evidencias sugieren que la serotonina participa sobre la sensibilidad al dolor (Shawn et al, 1967; Brown y Linola, 1990; Coccaro, 1992), las emociones, la agresividad (Miczek et al, 1989; Olivier y Mos, 1992), el ciclo sueño-vigilia (Fornal y Radulovacki, 1983; Reyes et al, 1983), la ingesta de alimento (Meltzer y Martin, 1987) la actividad sexual (Ahlenius et al, 1971, 1980; Larsson et al, 1978, 1986; McIntosh y Barfield, 1984a), la función neuroendocrina, (Shawn et al, 1967; Brown y Linola, 1990; Coccaro, 1992), los ritmos circádicos (Kordon et al, 1981; Bruinink et al, 1983) y la termoregulación (Sallanon et al, 1983; Young et al, 1985; Dourish et al, 1985 ;Meltzer y Martin, 1987), entre otros fenómenos. También se ha dado una gran importancia a la noradrenalina en la etiología de la depresión dada por su participación en la función neuroendocrina (Brown et al, 1994), mecanismos de recompensa, atención (Foote et al, 1980), motivación, respuesta al estrés (Gold et al, 1986; Nauta y Fertag, 1986), conducta sexual (Bitran y Hull, 1987) y regulación del ciclo sueño-vigilia (Cespuglio, 1982), además de participar en la respuesta al síndrome de supresión a opioides y de alcohol, por lo que se sugiere que puede estar involucrado en la sintomatología de las enfermedades afectivas (Siever, 1987; Caldecott et al, 1991; Brown et al, 1994; Charney et al, 1994; Schatzberf y Schildkraut, 1995).

Una de las aproximaciones importantes en la investigación sobre la depresión son los estudios farmacológicos que han proporcionado evidencias para determinar el efecto de la serotonina y la noradrenalina sobre la arquitectura del sueño en relación a la depresión. La disminución de la latencia de sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) es la anormalidad más característica de la depresión y esto podría estar relacionado con la disminución en los niveles de serotonina, ya que el incremento de su disponibilidad inducido por fenfluramina o zimelidina, bloqueadores selectivos de la recaptura de serotonina, alargan la latencia de SMOR (Fornal y Radulovacki, 1983; Reyes et al, 1983). Por otro lado, el sistema

colinérgico es otro de los sistemas que está implicado en las alteraciones descritas en pacientes deprimidos, que incluyen el inicio temprano de la etapa de SMOR e incremento en la duración del mismo, particularmente en la primera mitad del periodo de sueño (Kupfer, 1976; Sitaram y Gillin, 1980; Vogel et al, 1988). Así, la estimulación colinérgica con fisostigmina o con un agonista muscarínico como la arecolina puede mimetizar los cambios en el sueño que se presentan en la depresión (Tamminga, 1976). Sin embargo, probablemente las evidencias más convincentes de que la acetilcolina está involucrada en los trastornos afectivos resultan de las observaciones realizadas con agentes colinomiméticos que, inducen rápidamente un estado depresivo en sujetos normales (Bowers et al, 1964; Carroll et al, 1978; Sitaram et al, 1980; Janowsky et al, 1982; Risch et al, 1983; Dilsaver, 1986).

La pérdida del interés sexual es un síntoma clásico asociado con la depresión. En el presente trabajo los sistemas de neurotransmisión mencionados previamente participan en dicha alteración. La serotonina, en general tiene un efecto inhibitorio sobre la liberación de hormonas gonadales y la conducta sexual. Esto se sustenta en diversas manipulaciones farmacológicas, principalmente en ratas, que sugieren que al administrar una droga que incrementa la actividad serotoninérgica se suprime la conducta sexual, mientras que su disminución facilita la conducta sexual (Ahlenius et al, 1971, 1980; Larsson et al, 1978; 1986; McIntosh y Barfield, 1984a). De manera similar, la noradrenalina juega un papel importante en la regulación de la conducta sexual. Estudios farmacológicos han mostrado que la administración de yohimbina tiene un efecto estimulador en la conducta sexual, en seres humanos y en ratas, a través del bloqueo selectivo de los receptores α -adrenérgicos (Koskinen et al, 1990; Dewire et al, 1995; Carey y Jhonson, 1996; Tallentire et al, 1996). Por último, el sistema colinérgico juega también un papel importante en la conducta sexual. Así los estudios realizados en ratas muestran que la administración del agonista muscarínico oxotremorina facilita la conducta sexual masculina (Retana-Márquez, 1993).

ASPECTOS NEUROENDOCRINOS DE LA DEPRESIÓN

Durante la última mitad del siglo, las investigaciones se han enfocado hacia la regulación biológica de la conducta a través de la interrelación de dos sistemas: el nervioso y

el endocrino. Ambos sistemas coordinan complejas conductas y procesos fisiológicos relevantes para la supervivencia (Stokes y Sikes, 1987; Philip et al, 1988). El eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) ejemplifica la relación más consistente entre el sistemas nervioso y el sistema endocrino. Cuando se presenta un desbalance entre esta interrelación pueden producirse trastornos importantes, como es el caso de la disfunción del eje HHA en pacientes con depresión endógena, tal alteración se caracteriza por los elevados niveles del cortisol basal de una magnitud semejante a los de la enfermedad de Cushing (Gold et al, 1984, 1986; Plotsky et al, 1998). La hipersecreción de ACTH y glucocorticoides basales, así como las pruebas de función neuroendocrina, indican una alteración profunda en el sistema HHA en los pacientes que sufren depresión severa (Barden et al, 1995). Tal alteración del eje HHA se considera un marcador biológico al confirmarse una relación estrecha en un gran número de pacientes deprimidos, además de coexistir con otras anomalías del eje HHA estado-dependientes, en particular la resistencia a la prueba de supresión a la dexametasona (Stokes, 1966; Carroll, 1968).

Diferentes líneas de investigación sugieren que el hipercortisolismo representa un defecto funcional en o antes del hipotálamo, resultado de la hipersecreción de la CRF. Una de las evidencias importantes sugiere que la respuesta de la ACTH a la hormona CRF sintética se atenúa en la depresión, indicando que las células corticotrópicas hipofisarias se restringen apropiadamente por la retroalimentación negativa de los glucocorticoides (Gold et al, 1984, 1986; Nemeroff et al, 1984; Maes et al, 1995). Por otro lado, diversos estudio han determinado la participación de los sistemas de neurotransmisión en la liberación del CRF en el núcleo paraventricular. Tanto la noradrenalina como la adrenalina estimulan su liberación, se cree que a través de los receptores α -1-adrenérgico (Calogero et al, 1988). La acetilcolina y la serotonina son también mediadores excitadores que participan en la liberación del CRF. Por otra parte, el ácido-gamma-aminobutírico (GABA), el sistema de péptidos opioides, la ACTH y los glucocorticoides actúan como inhibidores (Calogero et al, 1988). En la misma dirección, se considera que los diferentes sistemas de neurotransmisión participan también en la etiología de la depresión por lo que no se puede descartar la posibilidad de que estén participando en la hiperfunción del eje HHA:

Uno de los fenómenos de gran interés es el efecto estimulador que ejerce la noradrenalina sobre el sistema HHA. En este sentido, la noradrenalina juega un papel importante en la hipersecreción de cortisol. Se ha observado que la administración local del CRF en la zona del locus coeruleus noradrenérgico en animales despiertos incrementa marcadamente el disparo de las neuronas que lo componen (Valentino et al, 1983; Roy et al, 1987). El sistema serotoninérgico, es otro de los sistemas que tiene gran importancia en la etiología de la depresión. Un gran número de evidencias conducen a que la disfunción del sistema serotoninérgico puede inducir o contribuir a la severidad de los trastornos afectivos, como mediador excitador de la liberación de CRF, posiblemente a través de los receptores 5-HT1a, 5-HT2 y 5-HT1c (Van de Kar, 1989; Calogero et al, 1993). Los estudios en animales de experimentación y en seres humanos, muestran la relación recíproca entre el eje HHA y la actividad serotoninérgica: el incremento en la actividad de los glucocorticoides puede disminuir la disponibilidad del precursor de serotonina (Maes et al, 1990 1990b; De Kloet y Reul, 1987; Singh, 1990, 1991), incrementar el número o la sensibilidad de los receptores 5-HT2 en la corteza, así como las respuestas conductuales que media este receptor (Kuroda et al, 1992) e inducir además, la desensibilización del receptor 5-HT1a (Haleem, 1992; Mendelson y MaEwen, 1992; Young et al, 1992).

Por otro lado, Risch y cols (1983) sugieren la participación del sistema colinérgico en la hipersecreción de cortisol. En este contexto, se ha determinado que las drogas colinomiméticas pueden elevar la secreción de ACTH, cortisol, y β -endorfinas. Varios estudios clínicos han documentado el efecto de los colinomiméticos sobre la actividad neuroendocrina en seres humanos. La infusión de fisostigmina y arecolina incrementa significativamente los niveles de ACTH, cortisol y β -endorfinas en pacientes normales y con trastornos psiquiátricos (Risch et al, 1981, 1983; Calogero et al, 1989). También, la fisostigmina revierte el efecto de la prueba de la dexametasona en sujetos normales, lo que sucede de manera natural en algunos individuos deprimidos (Doerr y Berger, 1983).

Las alteraciones neuroendocrinas que se presentan en la depresión endógena, no solo se limitan a la hiperactividad del eje HHA, también parecen involucrar al sistema hipotálamo-hipófisis-gónada (HHG). La falta de interés sexual es uno de los signos que se

presentan en pacientes con trastornos afectivos. Las complejas interacciones entre el sistema nervioso y el eje HHG, pueden hacer al sistema muy sensible a cualquier desajuste provocado por agentes o estímulos nocivos. La actividad del sistema HHG esta influenciada por diferentes neurotransmisores vinculados también con la etiología de la depresión, excitando o inhibiendo la liberación de la hormona liberadora de gonadotropina (LHRH), que a su vez actúa en la hipófisis para la liberación de las hormonas luteinizante (LH) y la folículo estimulante (FSH) que regulan la secreción de los andrógenos en el testículo. En este sentido, se ha intentado correlacionar la falta de interés sexual con los niveles hormonales de testosterona, LH, FSH y estradiol, así como su respuesta a la LHRH tanto en sujetos normales como en pacientes con depresión endógena. Sin embargo, las evidencias son contradictorias, mientras que Levitt y Joffe (1988) y Rubin y cols (1989) determinaron que la función del eje HHG en sujetos depresivos es normal; otros autores encontraron que los niveles de testosterona están disminuídos (Undén et al, 1988; Steiger et al, 1991) y la FSH incrementada en los pacientes deprimidos con respuesta anormal a la prueba de supresión a la dexametasona. Undén y cols (1988) proponen que la activación del eje HHA influye en el eje HHG en pacientes con depresión, dado que tienen incrementados los niveles de cortisol y una respuesta anormal a la prueba de supresión a la dexametasona. En este mismo contexto, Selye sugirió en 1946, que la exposición crónica al estrés incrementa la actividad del eje HHA y concomitantemente deprime la actividad del eje HHG.

Por otra parte, debido a las dificultades para realizar estudios en seres humanos, y principalmente en investigaciones relacionadas con enfermedades mentales, ha sido necesaria la implementación de modelos animales que reproduzcan el cuadro clínico y sobre los cuales se puedan realizar trabajos de experimentación tanto para determinar las etiologías, como para buscar los posibles procedimientos terapéuticos.

MODELOS ANIMALES DE DEPRESIÓN

Pensar que los trastornos psicopatológicos humanos pueden ser “modelados” en animales tiene su justificación en la teoría de la evolución y en la consideración de la psicología como ciencia natural. En este sentido los modelos animales pueden ser conceptualizados como

preparaciones experimentales desarrolladas en una especie para estudiar los fenómenos que ocurren en otras. Así, por definición, cualquier modelo no es igual al proceso u objeto “modelado”. Es más, en realidad consiste en una simplificación que permite un mejor estudio del mismo. En el caso de la depresión, los modelos animales nunca darán cuenta, por ejemplo, de los autoinformes tan necesarios en la clínica de los trastornos del afecto. Sin embargo, los modelos animales se han mostrado especialmente útiles en las fases de prueba de posibles fármacos y en la investigación de las bases neurales de los trastornos modelados.

Los diferentes modelos animales de depresión propuestos pueden diferenciarse, en su origen, como aquellos modelos relacionados con diversas condiciones estresantes y que comúnmente son capaces de disparar un episodio depresivo (Kennett, 1986; Willner et al, 1987). Otros, son modelos que previamente reciben un tratamiento farmacológico en la etapa neonatal, originando así un estado depresivo en la edad adulta (Mirmiran, 1981; Hilakivi y Hilakivi, 1987; Vogel et al, 1990). Por último, el manejo de cepas de ratas para la reproducción por herencia de ciertos rasgos conductuales como el caso de línea de ratas Flinders (Overstreet, 1993). La validez de cualquier modelo animal de trastornos psicopatológicos se evalúa generalmente tomando tres criterios que se han orientado fundamentalmente a valorar tres aspectos cruciales: validez predictiva, teórica y de apariencia (Willner, 1984).

La **validez predictiva** se refiere a la capacidad del modelo para detectar fármacos con eficacia terapéutica. Esto es que el modelo nos permita identificar correctamente diversos tratamientos farmacológicos antidepressivos sin producir errores de omisión o comisión y correlacionar la potencia de tales sustancias en el modelo con su posible potencia clínica.

Por lo que corresponde a la **validez teórica** esta será mayor cuanto más similares sean los fundamentos teóricos en el modelo y en la condición modelada. Esta correlación debe ser homóloga y debe ser interpretada sin ambigüedad.

La **validez de apariencia** consiste en la similitud fenomenológica entre el modelo y la depresión en sus múltiples aspectos. En general, esto se refiere a la medida en que el modelo animal propuesto reproduce la apariencia del cuadro depresivo que se presenta en los seres humanos.

Cabe precisar que paulatinamente se han ido generando modelos animales que cumplen

en mayor o menor medida, con los requerimientos que implican cada grado de validez. En las últimas décadas se han empezado a desarrollar diversas propuestas para diferentes trastornos, las cuales se han concentrado casi primordialmente en los trastornos afectivos y específicamente, en los cuadros depresivos. Debemos subrayar que la reproducción de signos y datos que se pueden modelar en animales y que se presentan en la depresión son indudablemente, una herramienta de primera importancia en la búsqueda de alternativas terapéuticas y en el avance del conocimiento acerca de los mecanismos que participan en la etiología de la depresión endógena humana. Respecto a la capacidad de cada modelo animal de depresión en presentar en gran medida algún grado de validez, a continuación se describen brevemente las evidencias existentes acerca de algunas de las anormalidades que algunos de los modelos de más interés tienen en la investigación para el estudio de los trastornos afectivos.

Validez predictiva

El descubrimiento de que los fármacos antidepresivos provocaban algunas respuestas específicas en ratas generó la idea de que estas respuestas pudieran constituir las pruebas biológicas capaces de seleccionar las drogas que tuvieran un potencial terapéutico como antidepresivos. Aquellos modelos que tienen la capacidad de responder a cualquier tratamiento antidepresivo se considera que presentan en gran medida la validez predictiva.

Uno de los primeros modelos de depresión que se implementaron fue el de la reversión del efecto de la reserpina (Costa, 1960), la cual disminuye la disponibilidad del neurotransmisor en las neuronas monoaminérgicas originando ptosis, hipotermia y catalepsia, tales efectos son revertidos específicamente con antidepresivos tricíclicos e inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO), diferenciándose claramente entre antidepresivos y neurolépticos (Howard y Soroko, 1981). Sin embargo, el modelo presenta problemas para detectar nuevos antidepresivos tricíclicos e IMAOs.

El modelo propuesto en los años 70's por Porsolt y cols (1977a, 1979) es uno de los que más interés han suscitado. La prueba llamada de nado forzado (FST por su siglas en ingles) o de Porsolt, consiste en colocar a una rata, por períodos de 15 minutos dentro de un cilindro de vidrio lleno de agua hasta una altura de 15 cm. En los primeros minutos, la rata presenta una

vigorosa actividad exploratoria con la intención de escapar, después de que tal actividad cesa, la rata permanece inmóvil, adoptando una posición característica (erguida sobre las patas traseras y la cola, recargando una o ambas extremidades anteriores en la pared del cilindro y manteniendo la cabeza levantada apenas arriba de la superficie del agua). Un amplio rango de antidepresivos reducen significativamente esta inmovilidad cuando se aplican sistemáticamente, entre ellos los tricíclicos, IMAOs, antidepresivos atípicos, electrochoques y la privación de SMOR. Si bien la prueba semeja muy poco los signos de la depresión, tiene una gran validez predictiva porque ha mostrado un gran potencial para pronosticar la eficacia terapéutica de alguna sustancia, y cuando se ha aplicado en animales manipulados para convertirlos en alguno de los modelos animales de depresión que reproducen algunos síntomas, se ha corroborado que el tiempo de inmovilidad en esta prueba está en relación directa con los niveles de depresión. Así, en ratas "deprimidas" la inmovilidad está incrementada en comparación con ratas controles tratadas con solución salina (Porsolt et al, 1977a, 1977b; Iversen et al, 1981; Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992). En el presente trabajo, la FST ha sido una herramienta importante para determinar el estado depresivo del animal.

Validez teórica

La validez teórica en un modelo animal de depresión está dada por el grado de coherencia que existe entre los datos que presenta el modelo con algunas de las hipótesis existentes que intentan explicar los mecanismos causales del padecimiento. Como se describió en el caso de la depresión existen diferentes teorías acerca de sus posibles mecanismos neurobiológicos, la gran mayoría se refiere a trastornos ubicados en uno o varios de los sistemas de neurotransmisión (Caldecott, 1991).

El desamparo aprendido fue originalmente descrito por Seligman y colaboradores (1975) en perros y subsecuentemente extendido a un gran número de otras especies, incluyendo al ser humano (para revisión: Garber et al, 1979). Seligman propuso el modelo llamado de desamparo aprendido (helplessness; Seligman et al, 1975), en el que a los perros o ratas se les presentaba repetidamente un estímulo aversivo (choque eléctrico) en condiciones donde el escape o la evitación no eran posibles. Estos paradigmas dieron como resultado una

inmovilidad condicionada que ha sido comparada con la depresión, ya que a pesar de proporcionarle a los animales posibilidad de escapatoria, en las mismas circunstancias estos mostraban una casi total incapacidad para evitar el estímulo aversivo. En tal modelo se observaron otros síntomas como la disminución en la actividad motriz, en las conductas apetitivas, en la actividad motora, en la agresión, pérdida de peso entre otros (Maier y Seligman, 1976). La similitud de estas modificaciones le dan una considerable validez de apariencia. Tales síntomas pueden ser revertidos con una variedad de antidepresivos incluyendo tricíclicos, IMAOs, antidepresivos atípicos y hasta los choques electroconvulsivos (Dorworthy y Overmeir, 1977; Leshner, 1979; Petty, 1980; Sherman, 1982; Seligman y Beagley, 1975).

Hace más de una década Kennett y cols (1986) propusieron el modelo de estrés crónico impredecible. Durante un periodo de tres semanas, las ratas son sometidas a diversos estresores (inmersión en agua fría, inmovilización, choques eléctricos, cambios del ciclo de luz-oscuridad, sonido y luz intensa) que se presentan de manera aleatoria, después de lo cual se registra la actividad motora del animal en una prueba de campo abierto. Este modelo reproduce algunas de las principales características de la depresión endógena, mismas que pueden ser revertidas con antidepresivos. El modelo de estrés crónico impredecible apoya la idea de que en la vida de un sujeto se presentan grandes eventos de dolor que contribuyen poco a la generación de la depresión, mientras que un alto nivel de estrés sostenido durante un tiempo largo puede tener una contribución importante en la generación de un cuadro depresivo (Aneshensel, 1982). Este modelo pretende simular las condiciones de estrés a las que generalmente están expuestos los individuos en la sociedad (Kennett, 1986). En los últimos años se ha desarrollado una variante conocida como el modelo de estrés crónico leve impredecible, donde las ratas son tratadas con diferentes estresores considerados como leves (aserrín mojado, inclinación de la caja, privación de agua y comida por periodos cortos, luz estroboscópica, presentación de objetos extraños, etc) que son aplicados de manera aleatoria y que se sustenta en la misma base teórica del modelo de estrés crónico impredecible, pero considera que la depresión se desarrolla a partir de que el individuo no es capaz de dar respuestas positivas ante estresores considerados como leves si estos se presentan crónicamente y aleatoriamente (Willner et al, 1987).

Existen otros modelos entre los que se encuentra el modelo de separación, por ejemplo, los monos infantes que son separados de su madre y presentan síntomas de depresión después de un periodo de protesta, caracterizado por agitación y llanto que se convierte en desesperanza, y se caracteriza por falta de apetito, de actividad y de interacción social (Iversen y Iversen, 1981). También se ha determinado que la fase de desamparo se puede predecir por los niveles de cortisol que se presentan durante la respuesta (Higley et al, 1982). Algunos tratamientos antidepresivos se han realizado para modificar la conducta producida por la separación, observando que el tratamiento crónico con imipramina disminuye las conductas que se presentan en el mono infante, aunque no todas las conductas fueron restablecidas por este fármaco (Suomi et al, 1978).

Overstreet y Russell en 1988, proponen uno de los pocos modelos animales que presentan un factor de predisposición genética para las enfermedades depresivas que se sustenta en la hipótesis de Janowski y cols. (1987, 1995) sobre la predominancia colinérgica asociada con la depresión. En este modelo se manifiesta una sensibilidad colinérgica incrementada que puede ser de gran utilidad para entender los mecanismos de enfermedades depresivas. Overstreet y cols. desarrollaron dos líneas de ratas a partir de animales con diferente respuesta a la anticolinesterasa diisopropil fluorofosfato (DFP) (Overstreet et al, 1979, 1988). La línea Flinders sensible (FSL por sus siglas en inglés) y la línea Flinders resistente (FRL). Las primeras son más sensibles a la anticolinesterasa DFP y a otros agonistas colinérgicos en comparación con las ratas controles FRL (Overstreet, 1982). También se ha observado que presentan una concentración incrementada de receptores muscarínicos en el núcleo estriado y el hipocampo en comparación con las FRL (Overstreet, 1984). Diversos estudios han confirmado el incremento en la sensibilidad de las ratas FSL a los agonistas muscarínicos, utilizando un amplio rango de índices conductuales y fisiológicos. Las ratas FSL adultas muestran muchas similitudes con los seres humanos que presentan enfermedades depresivas.

Validez de apariencia

Existen también modelos animales que han sido propuestos como simuladores de uno o varios de los síntomas fundamentales de la depresión endógena humana. Partiendo del cuadro

clínico de la depresión, es evidente que algunas de las características de la depresión no se pueden modelar en animales de laboratorio como es el caso de la sensación de minusvalía, incapacidad de concentración y pensamientos suicidas, pero sí otros como los cambios en la actividad locomotora, que en la gran mayoría de los casos tiende a disminuir, trastornos del sueño, del apetito, disminución de las conductas motivadas por placer como el consumo de agua endulzada con sacarosa, la autoestimulación intracraneal y la conducta sexual (Willner, 1984; Velázquez-Moctezuma, 1994).

Entre los modelos que presentan poca validez de apariencia esta el efecto que ejercen muchos antidepresivos al incrementar las acciones de las anfetaminas entre ellas, la hipotermia, la pérdida de peso, la actividad locomotriz, las conductas estereotipadas, etc. No es sorprendente que esta acción sea simulada por otras clases de drogas tales como estimulantes, anticolinérgicos, β -bloqueadores y anestésicos locales. Otro de los modelos con poca validez de apariencia es el modelo inducido por la administración de 5-hidroxitriptofano (5-HTP), el precursor de la serotonina, el cual disminuye la actividad de las ratas entrenadas para realizar alguna acción y obtener leche como recompensa. La administración de antidepresivos restituyen esta actividad inhibida por el 5-HTP (Nagayama et al, 1980, 1981). Esta prueba sin embargo, es muy poco específica, presentando falos positivos y falsos negativos para múltiples sustancias.

Las ratas sujetas con lesiones bilaterales de los bulbos olfatorios muestran una variedad de cambios conductuales, incluyendo irritabilidad, hiperactividad y elevación de los niveles plasmáticos de corticosteroides. Se ha observado que estos cambios son revertidos por drogas antidepresivas (Cairncross et al, 1979). Como resultado de la hiperactividad los animales también tienen una deficiencia en el aprendizaje por evitación pasiva, que es contrarrestado por antidepresivos con un alto grado de especificidad (Cairncros et al, 1979; Noreika et al, 1981; Lloyd et al, 1982).

En los último años, la administración de antidepresivos tricíclicos, que bloquean la recaptura de las monoaminas (Clomipramina, zimelidina, desipramina) en las ratas macho durante la etapa neonatal semeja, en la edad adulta, signos de la depresión endógena humana que pueden ser modelados en animales (Vogel y Vogel, 1982; Hilakivi y Hilakivi, 1987;

Rosenwasser y Heyes, 1993). Las ratas tratadas con antidepresivos en la etapa neonatal incrementan su actividad en campo abierto, la toma voluntaria de alcohol y el tiempo de inmovilidad en la prueba de Porsolt. De manera similar, la administración de antidepresivos en la etapa neonatal disminuye la actividad sexual, la conducta agresiva y las conductas de recompensa en la edad adulta (Mirmiran et al, 1985 Vogel et al, 1990). La administración de antidepresivos tricíclicos en la etapa neonatal soporta en gran medida la validez de apariencia como un modelo animal farmacogénico de depresión (Vogel et al, 1990). Estas deficiencias pueden restaurarse con la administración de antidepresivos tricíclicos en la edad adulta, así como con la privación de SMOR (Vogel, 1990)

El interés en nuestro laboratorio y en particular en este trabajo, es el modelo de depresión propuesto por Vogel y cols.(1982). En el que la administración de clomipramina (CLI) en la etapa neonatal produce signos semejantes a la depresión en la edad adulta. Una de las ventajas que tiene el modelo es que la administración CLI induce cambios de larga duración, esto permite estudiar algunos signos de la depresión, en particular las anormalidades que se presentan en la conducta sexual, y su posible correlación con los diferentes sistemas de neurotransmisión así como la actividad de los ejes HHA y HHG. A continuación se describirá este modelo más extensamente.

ANTECEDENTES

Una de las líneas de investigación en nuestro laboratorio tiene como propósito desarrollar el modelo animal de depresión endógena propuesto por Vogel y cols (1982), en el que se refleja un estado similar al de la depresión endógena humana. Los antecedentes para este modelo se obtuvieron del trabajo realizado por Mirmiran y cols en 1981, sobre el posible papel ontogénico del SMOR. Ellos se interesaron en la posibilidad de que el SMOR en la etapa neonatal podría jugar un papel importante en la conducta normal adulta. Para ello privaron de SMOR a ratas machos durante su periodo neonatal y observaron los efectos sobre la conducta en la edad adulta. La privación de SMOR fue producida mediante la administración de CLI (poderoso supresor del SMOR). En la edad adulta, las ratas tratadas con CLI mostraron anormalidades en la conducta sexual y en la actividad locomotora comparadas con los animales

control. Vogel y Vogel (1982) notaron que las anomalías observadas en las ratas tratadas con CLI semejaban el síndrome de depresión endógena humana. Como se mencionó anteriormente, los pacientes que presentan esta enfermedad tienen anomalías conductuales como disminución de la libido, cambios motores, principalmente retardo o agitación, y alteraciones en el patrón de SMOR. Las similitudes entre los pacientes deprimidos y las ratas tratadas con CLI, sugirieron que se reproducía un modelo animal de depresión endógena humana. Acorde con esta hipótesis, las ratas CLI tienen características que también se presentan en la depresión endógena humana como son, alteraciones del SMOR, disminución de la conducta sexual, de agresividad y de las conductas de búsqueda de placer (Neill, 1990; Vogel et al, 1982, 1990a, 1990b, 1990c, 1990d). De hecho, se ha corroborado en este modelo un incremento en la inmovilidad en la prueba de nado forzado, arriba mencionada, lo que apoya la noción de que la cantidad de inmovilidad durante dicha prueba es directamente proporcional al estado depresivo en la rata (Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992). La administración de antidepresivos y terapias conductuales como la privación de sueño MOR restablecen las alteraciones conductuales que se presentan en los animales tratados con CLI (Vogel et al, 1990) de manera similar a lo que se observa en seres humanos deprimidos.

Entre las alteraciones conductuales referidas, destacan las deficiencias que se presentan en la conducta sexual masculina. Se ha reportado y corroborado que la administración de CLI en la etapa neonatal afecta marcadamente diferentes aspectos de la conducta sexual masculina (Mirmiran et al, 1981; Vogel, 1982; 1996; Velázquez-Moctezuma et al, 1993). Así, las ratas CLI presentan incremento en la latencia de monta, de intromisión y de eyaculación, además de un menor número de montas e intromisiones, así como un número reducido de eyaculaciones en un periodo de tiempo o, en su caso, los animales no presentan actividad sexual (Vogel et al, 1982, 1996). Estas anomalías en las ratas CLI se reflejan en seres humanos como disminución de la libido, uno de los síntomas eminentes que frecuentemente se presentan en pacientes con depresión (Hamilton y White, 1959; American Psychiatric Association, 1959; Nelson, 1981) y asociados con alteraciones en algún sistema de neurotransmisión (Janowsky et al, 1972; Van de Kar, 1989). Por otro lado, las hormonas gonadales que participan en el mantenimiento de la conducta sexual en la rata macho, especialmente la testosterona, podrían

estar participando en las alteraciones observadas, ya que previos estudios en seres humanos indican la posible participación de las hormonas esteroides en la disminución del deseo sexual (Undén et al, 1988). De manera similar los altos niveles de cortisol en plasma se han asociado a trastornos afectivos, por lo que se considera de gran importancia su vinculación con el eje HHA y la actividad reproductiva. Esto se ha observado al microinyectar CRF en el tercer ventrículo cerebral de ratas, lo que causa un aumento en el número de montas y de intromisiones (Sirinathsinghji, 1987).

Debido a que, en el presente trabajo, la conducta sexual masculina en las ratas macho fue la principal conducta de estudio en el modelo animal de depresión propuesto por Vogel y cols (1982), a continuación describiremos ampliamente el patrón de la rata macho, así como la regulación de esta conducta tanto por los diferentes sistemas de neurotransmisión como por el sistema endocrino.

CONDUCTA SEXUAL EN LA RATA MACHO

La conducta copulatoria de la rata macho es innata y esta compuesta de patrones motores estereotipados. Este patrón se identifica como montas e intromisiones repetidas que culminan con la eyaculación (Sachs, 1988). La monta consiste en el abordaje de la hembra, por parte del macho, por la región posterior, palpando sus flancos con los miembros anteriores y presentando movimientos pélvicos de empuje, finalizando cuando el macho la desmonta lentamente. La intromisión se considera una monta con movimientos e inserción penéana, el contacto genital es muy breve, luego de lo cual el macho desmonta a la hembra, rápidamente. Inmediatamente después, el macho se acicala la región genital. Después de una serie de montas e intromisiones el macho presenta el patrón de eyaculación, que consiste en un movimiento pélvico más profundo, intenso y sostenido que el de una intromisión en el cual expulsa esperma y material coagulable para formar el tapón seminal. La desmonta es lenta y se caracteriza por un movimiento lateral de los miembros anteriores. Después el macho entra en una etapa de autoacicalamiento genital seguida de inactividad total, lo que se denomina periodo refractario o intervalo posteyaculatorio (IPE). Este período dura de 4 a 5 minutos después de la primera eyaculación y se prolonga de 1-2 minutos más con cada eyaculación sucesiva de manera

regular (Larsson, 1979; Larsson, 1986). Después de transcurrido el IPE, el animal reinicia la actividad copulatoria.

El carácter estereotipado del patrón copulatorio de la rata macho, ha conducido al desarrollo de un grupo estandarizado de medidas conductuales que son las que se utilizan para el análisis de la conducta sexual masculina. Estos parámetros son:

- 1.- Latencia de montas: tiempo que transcurre desde que el macho y la hembra entran en contacto hasta que se presenta la primera monta de la prueba.
- 2.- Latencia de intromisión: tiempo transcurrido desde que el macho y la hembra entran en contacto hasta que se presenta la primera intromisión.
- 3.- Latencia de eyaculación: tiempo transcurrido desde la primera intromisión de la serie hasta que se presenta la eyaculación.
- 4.- Intervalo posteyaculatorio: tiempo transcurrido entre una eyaculación y el inicio de una nueva serie, determinado por la siguiente monta con o sin intromisión.
- 5.- Número de montas: número de veces que se presenta este patrón motor en una serie eyaculatoria.
- 6.- Número de intromisiones: número de veces que se presenta este patrón motor en una serie eyaculatoria.
- 7.- Frecuencia de eyaculación: número de eyaculaciones que se presentan durante el tiempo total de la prueba.
- 8.- Tasa de aciertos: número de intromisiones entre el número de montas más el número de intromisiones. El rango de la tasa de aciertos es de 0 a 1.
- 9.- Intervalo interintromisión promedio: tiempo entre las intromisiones registradas en una serie eyaculatoria.
- 10.- Intervalo intercopulatorio: intervalo de tiempo entre cada monta, con o sin inserción peneana.

A la serie de eventos conductuales que se presentan desde la primera monta o intromisión hasta la eyaculación se le denomina serie eyaculatoria. Cuando se incluye al intervalo posteyaculatorio en la serie, esta recibe el nombre de serie copulatoria (Figura 1).

La conducta sexual masculina se analiza según dos componentes principales: la

motivación sexual y la potencia sexual. La motivación sexual hace que el macho busque tener contacto con una compañera sexual y se mide a través de la latencia de monta. Este parámetro es considerado como una de las aproximaciones más directas de la motivación porque no requiere que el macho presente erección peneana o que la hembra presente lordosis. El intervalo interintromisión también se considera como un indicador de la motivación sexual dado que involucra la refractoriedad breve inducida por cada intromisión (Sachs y Garinello, 1979).

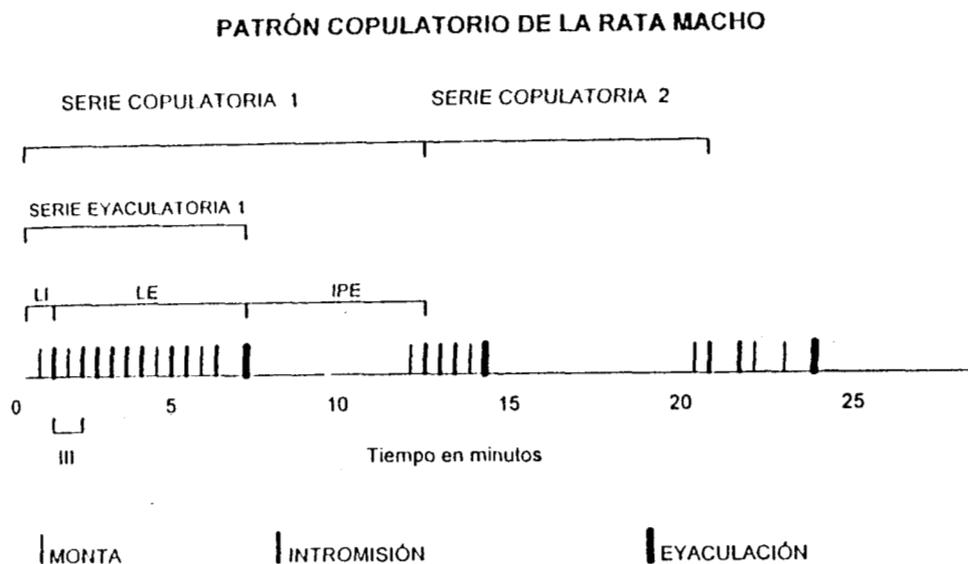


Figura 1. Patrón copulatorio de la rata macho. LI= Latencia de Intromisión, LE= Latencia de Eyaculación, IPE= Intervalo Posteyaculatorio.

El parámetro que refleja indirectamente la eficiencia copulatoria es la tasa de aciertos, esta medida es sensible a los tratamientos que afectan el potencial eréctil del macho o a la sensibilidad peneana y refleja también la receptividad de la hembra. El número de intromisiones que preceden a la eyaculación y la latencia de eyaculación son parámetros que se consideran para analizar el umbral eyaculatorio hipotético (Beach, 1956). El potencial copulario total del macho puede ser medido por el número de eyaculaciones que ocurren en un lapso de tiempo determinado.

La conducta sexual de la rata puede ser influenciada por diversos tratamientos farmacológicos. Los fármacos pueden facilitar o inhibir algunos de los parámetros de la

conducta sexual del macho. En el modelo de la rata, se considera facilitación cuando se observa incremento en el porcentaje de machos que presentan actividad sexual, incremento en la frecuencia de eyaculación, disminución en el número de intromisiones, así como en la latencia de eyaculación. Como efectos inhibitorios, se observan uno o más de las situaciones opuestas a las anteriores, además de aumentar la latencia de monta e intromisión.

ASPECTO NEURAL CENTRAL DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

La conducta sexual es activada por la acción combinada de estímulos sensoriales y hormonales. Su regulación y mantenimiento esta dado a través de los diferentes procesos de neurotransmisión y de la acción de las hormonas gonadales en el sistema nervioso central (Hutchison,1978). Utilizando técnicas de estimulación o de lesión, entre otras, se han podido identificar las estructuras cerebrales y el papel que juegan en los procesos relacionados directamente con esta conducta. En la figura 2 se observan las principales vías nerviosas centrales que intervienen en la regulación de la conducta sexual masculina: el bulbo olfatorio que tiene proyecciones directas a la amígdala, específicamente al núcleo cortical medial, al núcleo de la cama de la estría terminal y al núcleo del tracto olfatorio, es ahí donde el área preóptica medial (APOm) recibe aferencias de la amígdala directamente o vía estría terminal (Meisel y Sachs, 1994). Es en el APOm donde se integra la información que se recibe del medio externo (presencia de una hembra), la información hormonal y la información neuroquímica. De aquí se envía la información eferente al sistema motor estriatal a través del área tegmental ventral, iniciándose así una conducta sexual motora (Meisel y Sachs, 1994).

Diferentes estudios de lesión en diferentes regiones del cerebro pueden alterar en diversos grados la conducta sexual masculina. Sin embargo, los efectos más consistentes se observan cuando se destruye el APOm totalmente dado que se altera drásticamente la conducta sexual hasta abolirla por completo, mientras que cuando las lesiones son pequeñas la conducta sexual se elimina temporalmente (Heimer y Larsson, 1966; 1967). Esta inhibición de la conducta sexual después de lesionar el APOm se observa en varias especies estudiadas hasta la fecha: pollo, rana, ratón, hámster, rata, cabra, gato, perro, mono rhesus, etc. (Meisel and Sachs, 1994). De hecho, la estimulación eléctrica de las neuronas en esta área produce efectos

facilitatorios sobre la conducta sexual (Malsbury, 1971; Paredes et al, 1996). Además esta área del sistema nervioso es el principal blanco de la testosterona en la activación de la conducta sexual y donde se concentra una gran cantidad de receptores específicos de los diferentes sistemas de neurotransmisión relacionados con la conducta sexual masculina, como son los monoaminérgicos, colinérgicos y gabaérgicos (Kierniesky y Gerall, 1973; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1995).

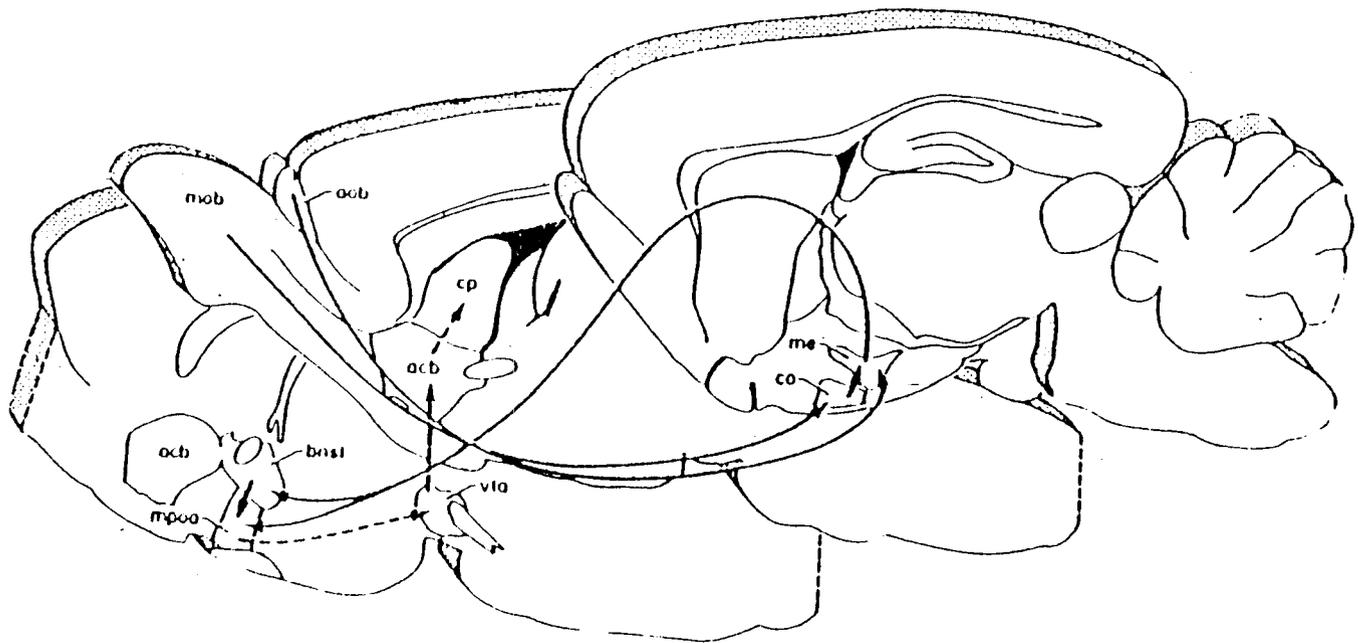


Figura 2. Algunas de las vías neuronales que regulan la conducta copulatoria masculina. Modelo propuesto por Mogenson y cols (1980). Se muestran solo algunas de las aferencias más relevantes hacia el área preóptica medial, principalmente las que provienen de la amígdala medial. Abreviaciones: acb= núcleo accumbens ; aob=bulbo olfatorio accesorio; bnst= núcleo de la cama de la estría terminal; co= amígdala cortical; cp=putamen-caudado; me=amígdala medial; mob= bulbo olfatorio principal; mpoa= área preóptica medial; vta= área tegmental ventral.

ASPECTOS NEUROENDOCRINOS DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

La expresión de la conducta sexual masculina es modulada por factores endócrinos y nerviosos. Dentro de los factores endocrinos, se ha demostrado que la testosterona, el principal andrógeno, tiene un papel central en el mantenimiento de la conducta sexual masculina. En este sentido se ha descrito que la castración en los machos de diferentes especies, suprime gradualmente la expresión de la conducta sexual y que el tratamiento con testosterona restituye los efectos de la castración (Larsson, 1979; Meisel y Sachs, 1994). Por otro lado, se considera que los metabolitos activos de la testosterona, como la androstendiona, son efectivos para mantener la cópula en las ratas macho, hamster y ratón (Beyer et al, 1973; Christensen, 1973). Dado que la testosterona ejerce su acción a nivel periférico y central, la dihidrotestosterona es considerada como el metabolito activo de la testosterona en la mayor parte de los tejidos periféricos relacionados con los reflejos peneanos como la erección. Por otro lado, el estradiol, a través de la aromatización de la testosterona dentro del sistema nervioso central, tiene efecto facilitatorio en esta conducta (Beyer, 1979). En resumen, es necesaria la participación de ambos tipos de hormonas, andrógenos y estrógenos para la expresión de la conducta sexual masculina.

El sistema nervioso central es el principal sitio de acción de las hormonas gonadales para la activación de la conducta copulatoria. El APOm y el hipotálamo anterior son las áreas más sensibles a la testosterona y donde se concentra un gran número de receptores a este andrógeno (Davidson, 1966). Los implantes de testosterona en el APOm o en el hipotálamo anterior, en ratas castradas, restituye efectivamente la conducta sexual (Fisher, 1956).

El hecho de que la restitución hormonal con andrógeno induce la reactivación de la conducta sexual ha sugerido una importante interacción entre las hormonas gonadales y los diferentes sistemas de neurotransmisión, los cuales participan facilitando o inhibiendo dicha conducta. Concerniente a la interacción de las hormonas gonadales y el sistema serotoninérgico, se ha encontrado que la administración crónica de propionato de testosterona disminuye los niveles de serotonina y sus metabolitos en varias regiones cerebrales (Bonson et al, 1994), esto indica que la testosterona activa la conducta sexual masculina reduciendo la transmisión en la sinápsis serotoninérgica (Larsson, 1979). En relación a las catecolaminas, la castración incrementa los niveles de receptores β -adrenérgicos (Pretovic et al, 1984), así como el

recambio de noradrenalina en el hipotálamo, mientras que el tratamiento con testosterona incrementa la liberación de noradrenalina (De Paolo et al, 1982). Referente a la relación entre el sistema colinérgico y la testosterona, se ha determinado que la testosterona disminuye la actividad de las enzimas que participan en el metabolismo de la acetilcolina, la enzima de síntesis, colinacetiltransferasa y la enzima de degradación, acetilcolinesterasa, localizadas en el APOm después de la castración. Además los experimentos realizados por Retana-Márquez y cols (1996) muestran que se requiere la presencia de testosterona para la activación de los receptores muscarínicos. Se ha determinado que las hormonas gonadales actúan sobre las neuronas principalmente a través de la activación genómica, expresada en la síntesis de proteínas (Anderson,1982; Nock y Feder, 1982). Esta actividad podría ser responsable de cambiar la cantidad y tipo de enzimas que regulan los niveles del neurotransmisor, así como propiciar cambios en los niveles de los receptores o su afinidad para un neurotransmisor específico.

ASPECTOS NEUROQUÍMICOS DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

Como veremos a continuación, en una extensa variedad de investigaciones se ha determinado el papel de cada uno de los neurotransmisores en la conducta sexual en roedores, así como los receptores específicos involucrados en ella (Bitran,1987).

MONOAMINAS

En la hipótesis concerniente a las bases neuroquímicas de la conducta copulatoria en los machos, las monoaminas (serotonina, dopamina, noradrenalina y adrenalina) juegan un papel importante en la regulación de la expresión de la conducta sexual masculina. Cada uno de ellos puede tener un papel facilitatorio o inhibitorio.

Serotonina

Las monoaminas cerebrales, especialmente la 5-hidroxitriptamina (5-HT) o serotonina, han sido involucradas en el control de la conducta sexual masculina (Malmnas,1973; Mendelson,1985). Sin embargo, la naturaleza de su participación no está del todo clara. Por un

lado, existen datos que sugieren que esta monoamina inhibe la conducta sexual masculina (Ahlenius,1971; Ahlenius,1980; Larsson,1986; Salis,1971; Lorrain et al, 1997). Así, el tratamiento con p-clorofenilalanina (pCPA) o la degeneración de las neuronas serotoninérgicas con la neurotoxina 5,7-dihidroxitriptamina (Larsson,1978; McIntosh,1984a) facilitan diferentes aspectos de ésta conducta dado que se reducen el número de intromisiones, la latencia de eyaculación y el intervalo posteyaculatorio. Mientras que la administración del precursor serotoninérgico 5-hidroxitriptófano o de la 5-HT incrementan el número de intromisiones y prolongan la latencia de eyaculación (Malmnas,1973; Ahlenius y Larsson,1987). Más aún, la microinyección de 5-HT en el APOm, estructura que juega un papel fundamental en el control de la conducta sexual masculina, produce una fuerte inhibición de la misma (Verma et al, 1989). Paradójicamente, otros experimentos muestran que el tratamiento con potentes compuestos agonistas del subtipo del receptor 5-HT1a, como el 8-OH-DPAT y el lisuride facilitan la conducta sexual, disminuyendo el número de montas e intromisiones, así como la latencia de eyaculación (Ahnelius et al, 1980, 1981, 1984). Una facilitación similar sobre la conducta sexual se observó cuando se administró el 8-OH-DPAT en el núcleo accumbens y en el APOm (Fernández-Guasti et al, 1992). Los antagonistas del receptor 5-HT2, como la pirenperona, inhiben la conducta sexual (Mendelson y Gozalska, 1985). Estos resultados sugieren que los agonistas y antagonistas de los diferentes tipos de receptores serotoninérgicos están involucrados en la expresión de la conducta sexual, como es el caso del 5-HT1a que la facilita, mientras que el 5-HT1b la inhibe (Fernández-Guasti et al, 1989, 1991, 1992, 1997). Además, se ha sugerido una importante interrelación entre las neuronas serotoninérgicas y las noradrenérgicas en la regulación de la conducta sexual (Fernández-Guasti et al, 1986).

Noradrenalina

La participación del sistema noradrenérgico central en la regulación de la conducta sexual masculina no ha sido del todo entendida, sin embargo, la mayor parte de los resultados sugieren que este neurotransmisor tiene un papel facilitador de la conducta copulatoria masculina (McIntosh,1984c; Bitran y Hull, 1987). Diferentes manipulaciones que disminuyen las concentraciones de noradrenalina, como el bloqueo de su síntesis con dietilditiocarbamato,

la lesión electrolítica del locus coeruleus (McIntosh,1984c) y la reducción de las vías noradrenérgicas por la neurotoxina 2-cloroetil-N-etil-2-bromobencilamina (DSP4) (Fernández-Guasti,1986) inhiben diferentes aspectos de la conducta sexual. Por otro lado, el incremento en la liberación de noradrenalina por el bloqueo de los autoreceptores presinápticos α -2 aumenta el porcentaje de animales que copulan y facilitan diferentes aspectos de la conducta sexual, sobre todo en relación al periodo refractario posteyaculatorio, que se observa disminuido (Clark et al, 1984; Smith et al, 1987). La yohimbina, por ejemplo, un potente antagonista del adrenoceptor α -2, es muy efectiva en la estimulación de ciertos aspectos de la conducta sexual de la rata macho. Cuando su administración es aguda estimula el componente motivacional sexual mientras que cuando se administra a ratas anestesiadas en la región genital, estimula el componente consumatorio, dado que incrementa el porcentaje de machos que presentan el patrón de monta, de intromisión y de eyaculación (Kwong et al, 1986; Smith y Davidson, 1990; Sala et al, 1990). En contraposición, la clonidina, un agonista del receptor α -2, suprime la conducta sexual, este efecto es revertido por la administración de yohimbina (Smith et al,1987). Se ha observado que el bloqueo por otros dos antagonistas del mismo tipo de la yohimbina, el idazoxan y el imiloxan, también estimulan la conducta sexual, al disminuir el intervalo intercopulatorio y la latencia de eyaculación (Smith,1987; Bowes et al, 1992).

Dopamina

En el caso de la dopamina (DA), se sugiere que tiene un papel mediador entre el inicio y el mantenimiento de la conducta copulatoria masculina, incluyendo el IPE. El incremento en los niveles de dopamina acorta este periodo y el bloqueo de los receptores a dopamina y noradrenalina con clorpromazina o la disminución por la administración intraventricular de la neurotoxina específica para neuronas catecolaminérgicas 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA), causa un incremento en la duración del IPE (Vogel,1988; Vogel,1982). Otras evidencias observadas por la administración de apomorfina, un agonista de los receptores D2, facilita la conducta sexual al disminuir la latencia de eyaculación y el número de intromisiones (Ahlenius y Larsson 1984), tanto en las ratas jóvenes como de edad adulta (Clark y Smith, 1987). En otros experimentos (McIntosh,1984b) la disrupción total del sistema dopaminérgico central por la

lesión electrolítica de la sustancia nigra, principal acúmulo de neuronas dopaminérgicas cerebrales, también origina un incremento en las latencias y en el IPE. Sin embargo, cuando se inyecta apomorfina en el APOm se incrementa el número de eyaculaciones y se reducen la latencia de eyaculación y el IPE (Hull et al, 1986).

ACETILCOLINA

En los primeros estudios farmacológicos realizados para determinar el papel del sistema colinérgico en la conducta sexual se sugiere que las drogas colinomiméticas suprimen la conducta sexual masculina. Ejemplo de tales drogas son la nicotina, que estimula los receptores nicotínicos, la fisostigmina, que bloquea la degradación de la acetilcolina inhibiendo la acetilcolinesterasa, y los antagonistas colinérgicos, atropina y escopolamina, que bloquean los receptores colinérgicos muscarínicos. Sin embargo, las dosis empleadas de estas drogas fueron muy altas, lo que podría interferir con la conducta motora y las funciones autónomas por lo que sus efectos son cuestionables. Respecto a los receptores colinérgicos nicotínicos resulta que una dosis baja de nicotina parece tener un efecto facilitador sobre la conducta sexual masculina (Soulairac y Soulairac, 1975). Sin embargo, en estudios realizados por Retana-Márquez y cols (1993) se determinó que la nicotina tiene un ligero efecto facilitador al disminuir el número de intromisiones necesarias para alcanzar la eyaculación.

Al parecer, el sistema colinérgico participa en la regulación de la conducta sexual masculina principalmente a través del sistema muscarínico. Los receptores muscarínicos han sido divididos en al menos dos subtipos, M1 y M2, acorde a su afinidad diferencial por la pirenzepina (Hammer et al, 1980; Hammer y Giachetti, 1982). Conforme han surgido nuevos fármacos y nuevas técnicas farmacológicas y moleculares, han crecido también las propuestas de nuevas subdivisiones de receptores muscarínicos, existiendo actualmente, hasta 5 subtipos (Adem, 1997; Baghdoyan, 1997). Cuando se administra oxotremorina (OXO), un agonista muscarínico, por vía periférica o directamente en el APOm se facilita la conducta sexual al incrementar la frecuencia de eyaculaciones por una disminución del número de intromisiones y de la latencia de eyaculación en ratas macho (Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993; Hull et al, 1988). Como podría esperarse, este efecto facilitador de la OXO es bloqueado por el

pretratamiento con el antagonista muscarínico escopolamina-hidrocloruro (SCO-HCl; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993; Hull et al, 1988). La SCO-HCl sola incrementa las latencias de monta y de intromisión y disminuye el porcentaje de machos sexualmente activos de manera dosis-dependiente, además de disminuir la frecuencia de eyaculación. De hecho, se han confirmado evidencias previas, en el sentido de que la OXO podría producir su efecto facilitador a través del subtipo de receptor muscarínico M1 (Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se ha descrito anteriormente, el uso de los modelos animales ha sido de gran importancia en la elucidación de ciertos fenómenos siendo la rata de laboratorio el animal más empleado para ello, dado que es capaz de presentar lo más semejante a los síntomas clínicos de la depresión endógena humana (Willner, 1984). Entre las características más importantes de la depresión endógena, se encuentra la pérdida de interés e incapacidad para experimentar placer, como se manifiesta por ejemplo en una disminución de la libido en el ser humano y en la reducción de la conducta sexual en ratas macho (Vogel et al, 1990). Es posible que el estudio de las alteraciones conductuales, en particular la conducta sexual masculina en el modelo propuesto por Vogel (1982), permita determinar los posibles factores etiológicos que están involucrados en la depresión endógena. Como la conducta sexual en roedores es caracterizable y cuantificable siguiendo criterios establecidos y dado que los mecanismos que la regulan son relativamente bien conocidos, la hacen una herramienta importante para conocer algunas de las alteraciones del sustrato neuronal que posiblemente acompañan a la depresión endógena.

La conducta sexual masculina es susceptible al tratamiento neonatal con CLI, sin embargo, los mecanismos precisos por los que tales alteraciones ocurren son desconocidos. A pesar de lo anterior, una idea aún no evaluada es determinar como la administración de CLI en la etapa neonatal produce cambios a largo plazo en los sistemas de neurotransmisión que regulan la conducta sexual.

Debido a que existe poca información sobre los mecanismos involucrados en la depresión, el interés de nuestro laboratorio, es precisamente tratar de determinar, mediante

manipulaciones farmacológicas si los sistemas colinérgico, noradrenérgico y serotoninérgico pudieran estar alterados y a su vez mantener la inhibición sexual masculina en la depresión endógena. Resultaría interesante también validar el modelo mediante la determinación plasmática de corticosterona y testosterona y su posible participación con la alteración de algunos de los sistemas de neurotransmisión a explorar.

HIPÓTESIS

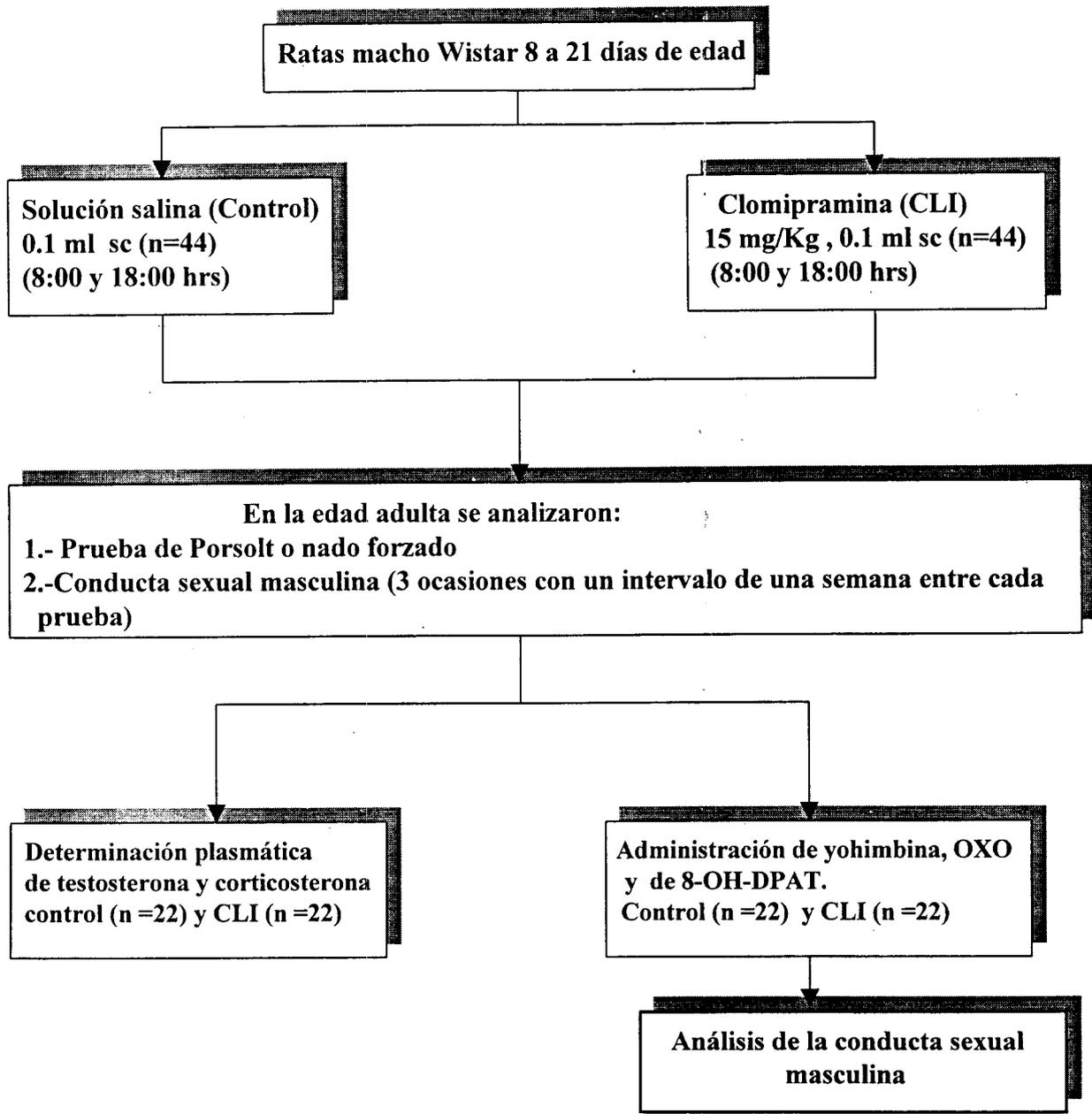
- El tratamiento neonatal con clomipramina deteriora diferentes parámetros de la conducta sexual masculina, desplegados en la edad adulta, a través de alterar los sistemas de neurotransmisión colinérgico, noradrenérgico y/o serotoninérgico. Los fármacos (Yohimbina, Oxotremorina y 8-OH-DPAT) facilitadores de la conducta sexual masculina serán capaces de revertir los efectos causados por la administración de CLI en dicha conducta.
- El tratamiento neonatal con clomipramina produce alteraciones en los ejes Hipotálamo-Hipófisis-adrenal e Hipotálamo-Hipófisis-gonada, manifestadas por el incremento en los niveles plasmáticos de corticosterona y por la disminución de testosterona plasmática, respectivamente.

OBJETIVOS

- Determinar cambios en los parámetros copulatorios en la rata macho adulta por la administración de clomipramina en la etapa neonatal.
- Determinar el efecto de la administración de yohimbina, oxotremorina y 8-OH-DPAT sobre los parámetros copulatorios en ratas tratadas neonatalmente con clomipramina.
- Valorar los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona en ratas macho adultas tratadas neonatalmente con clomipramina.
- Correlacionar los cambios en los niveles circulantes de corticosterona y testosterona con la depresión endógena.

MATERIAL Y MÉTODO

Se emplearon 30 ratas Wistar hembras adultas e intactas, cada una colocada en presencia de machos expertos permitiéndoles la cópula hasta que los machos alcanzarán al menos dos eyaculaciones. Este día se tomó como el día 0 de gestación y se separó a cada una de las hembras en una caja individual con agua y alimento *ad libitum*. Tres días después del nacimiento, se entrecruzaron las camadas utilizando solamente los crías machos, mientras que las crías hembras se sacrificaron. Cada hembra lactante recibió un número similar de críos (n=4). Se determinaron los grupos control y experimental. Entre los 8 y 21 días de edad cada crío del grupo control (n=44) fue inyectada subcutáneamente con 0.1 ml de solución salina. Al grupo experimental (n=44), en el mismo período, le fue inyectado subcutáneamente 15 mg/kg peso de clorhidrato de clomipramina (CLI; Anafranil, CIBA Geigy; Vogel et al, 1981). En los dos grupos las inyecciones se aplicaron dos veces al día (8:00 y 18:00 hrs). A los 25 días de edad fueron separados de sus madres colocándolos en cajas de 50x20x30cm por grupos, tanto los controles como los experimentales. Cuando los animales pesaron cerca de 200gr se mantuvieron en cajas de 50x20x30, 6 ratas del mismo grupo por caja. Las ratas se mantuvieron bajo condiciones de temperatura y humedad constantes en un ciclo de luz invertido (la luz se apaga 9:00 a.m.; de 12/12hrs) con comida y agua *ad libitum*. En la edad adulta todos los animales controles y experimentales fueron sometidos a dos pruebas conductuales para corroborar el estado depresivo de los animales tratados neonatalmente con CLI, posteriormente los grupos se dividieron. Un lote de animales que recibieron ambos tratamientos se les utilizó para el análisis de la conducta sexual masculina con la administración de fármacos, mientras que el otro para la determinación plasmática de corticosterona y testosterona (ver diagrama de flujo).



PRUEBAS CONDUCTUALES

A los cuatro meses de edad todos los animales tratados neonatalmente con solución salina (grupo control) y con CLI (grupo experimental) fueron sometidos a dos pruebas conductuales para determinar su estado depresivo. Las pruebas conductuales utilizadas fueron: la conducta sexual masculina espontánea y la prueba de Porsolt o de nado forzado. La primera prueba nos permitió establecer las alteraciones que se presentan en los diferentes parámetros de la conducta sexual descritas por Vogel y cols (1982, 1990). La prueba de nado forzado permite determinar si el animal presenta un estado depresivo que se correlaciona directamente con el tiempo de inmovilidad (Velazquez-Moctezuma, 1992). Entre la prueba de nado forzado y la conducta sexual hubo un intervalo de 15 días.

Conducta Sexual Masculina

Se analizó la conducta sexual masculina de los machos en tres ocasiones, con un intervalo de una semana entre cada observación. Los registros de conducta sexual se realizaron 4 hrs después del inicio de la fase oscura, bajo condiciones de iluminación roja tenue. Se colocaron a los machos en un redondel de plexiglas transparente de 45 cm de diámetro con piso de aserrín. Después de 5 min de habituación se introdujo una hembra sexualmente receptiva, tratada con (10 g/0.1 ml de aceite, sc) 48 horas previas al registro y progesterona (2 mg/0.1 ml de aceite, sc) 44 horas después de la administración del benzoato de estradiol. Todos Los registros de conducta sexual tuvieron una duración de treinta minutos. Se consideró a los machos como sexualmente expertos hasta la tercera prueba de conducta sexual en la que se evaluaron los siguientes parámetros: latencia de monta, de intromisión y de eyaculación, número de montas y de intromisiones, frecuencia eyaculación, tasa de aciertos, intervalo posteyaculatorio e intervalo interintromisión. Cada uno de los parámetros se analizaron únicamente para la primera serie copulatoria considerando que algunos animales tratados neonatalmente con CLI eyaculaban una sola vez o no presentaban actividad copulatoria.

Prueba de Porsolt o Nado Forzado.

La prueba consistió en introducir a la rata en un cilindro de vidrio (34 cm de altura X

16 cm de diámetro) con agua a 25 °C a una altura de 15 cm durante 15 min el primer día. 24 horas después se les realizó la misma prueba, pero durante 5 minutos. En los primeros minutos que la rata es introducida, presenta vigorosa actividad exploratoria con la intención de escapar luego, la rata permanece inmóvil flotando pasivamente en el agua en una posición característica (erguida sobre las patas traseras y la cola, recargando una o ambas extremidades anteriores en la pared del cilindro y manteniendo la cabeza levantada apenas arriba de la superficie del agua) (para revisión: Porsolt, 1977a; 1978). El tiempo de inmovilidad se evaluó solamente en los momentos que el animal permaneciera quieto durante ambas pruebas.

Administración de Yohimbina, Oxotremorina y 8-OH-DPAT

Una vez que se realizaron las pruebas de conducta sexual masculina en los animales tratados neonatalmente con CLI y solución salina se procedió, en ambos grupos, a la administración de cada uno de los siguientes tratamientos: solución salina como vehículo 15 min antes de la prueba; yohimbina a una dosis de 2 mg/kg 20 minutos antes del inicio de la prueba; 8-OH-DPAT a una dosis 0.125 mg/kg 15 minutos antes de la prueba y OXO a una dosis de 0.4 mg/kg 30 minutos antes de la prueba. Todas las inyecciones se realizaron intraperitonealmente en un volumen de 0.3 ml. Antes de la administración de la OXO, los animales recibieron un bloqueo periférico con escopolamina-metil-bromuro (3 mg/kg) 45 minutos antes de la prueba. Para garantizar que el efecto de la OXO fuera exclusivamente central. Los sujetos recibieron las inyecciones al azar siguiendo un esquema de cuadro latino.

Determinación Plásmatica de Corticosterona y Testosterona

La determinación plasmática de corticosterona y testosterona se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), según el método de Woodward y Emery (1987). Se decapitaron primeramente a los animales para la obtención de la sangre en tubos heparinizados y se centrifugaron para la extracción del plasma, a 1 ml de éste se le adicionaron 100µl de 19-nortestosterona (5.0 µg/ml de metanol) como estándar interno, 150 µl de hidróxido de sodio (0.3 M) para prevenir la extracción de contaminantes fenólicos y 5 ml de una mezcla de dietileter-diclorometano (60:40 v/v) para la extracción de los esteroides. Después los tubos

se agitaron en un vórtex, se centrifugaron y el sobrenadante se transfirió a otro tubo adicionándole 1ml de agua grado HPLC. Después de centrifugar nuevamente, el sobrenadante se transfirió a otro tubo y se evaporó con nitrógeno a temperatura ambiente. Los residuos se redisolviéron en 100 µl de metanol-agua (55:45 v/v).

Para el análisis de las muestras en el cromatógrafo se inyectó un volumen de 20 µl. Los esteroides se separaron en una columna cromatográfica Nova Pack C18 de fase reversa. La fase móvil consistió en una mezcla de metanol-agua (58:42) a un flujo de 1 ml/min. La detección de los esteroides se monitoreó con detector ultravioleta a 250 nm de longitud de onda.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un análisis no paramétrico para comparar los resultados obtenidos entre el tratamiento neonatal con CLI y solución salina en las pruebas de conducta sexual, que en este caso fue la prueba U de Mann-Whitney con un nivel de significancia de 0.05. Para comparar los tiempos de inmovilidad que presentan los animales en la prueba de Porsolt o nado forzado, se aplicó la t-Student con el mismo nivel de significancia.

En relación a los resultados obtenidos en los registros de conducta sexual masculina para analizar el efecto de la administración de los diferentes fármacos en animales tratados neonatalmente con solución salina y CLI se utilizó un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis (ANOVA) con un nivel de significancia de 0.05. Cuando se detectaron diferencias significativas en la ANOVA en alguno de los parámetros de la conducta sexual se realizó la prueba de Dunn para determinar las diferencias con respecto a la administración de solución salina utilizada como vehículo.

Para la comparación del porcentaje de sujetos que despliegan conducta de monta, intromisión y de eyaculación en la prueba de conducta sexual masculina con o sin la administración de fármacos se aplicó la prueba de Chi-cuadrada con un nivel de significancia de 0.05.

Por último, para la comparación de los niveles de corticosterona y testosterona en ambos tratamientos se utilizó la prueba de t-de Student con un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS

Efecto de la administración neonatal de CLI sobre la Conducta Sexual Masculina

Solo se muestran los resultados obtenidos en la tercera prueba de conducta sexual masculina en los animales tratados neonatalmente con CLI y solución salina.

El porcentaje de sujetos que despliegan montas, intromisiones y eyaculaciones en ambos tratamientos se muestra en la Figura 3. El tratamiento neonatal con CLI disminuye ligeramente el porcentaje de animales que despliegan los patrones de monta y de intromisión, sin ser significativamente diferente del grupo control tratado neonatalmente con solución salina. Sin embargo, el patrón de eyaculación es ejecutado por el 60% y es estadísticamente significativo en relación al control ($p < 0.002$; Figura 3). Es importante subrayar que del 60% de los animales que presentan el patrón eyaculatorio, solo la mitad alcanza a eyacular hasta dos veces. El efecto del tratamiento neonatal con CLI sobre la latencia de monta, de intromisión y de eyaculación muestra un incremento significativo en los animales CLI (Figura 4). La latencia de monta y de intromisión se incrementaron cuatro veces más que en el grupo control. De igual manera, la latencia de eyaculación se incrementó al doble respecto al grupo control llegando hasta 800 seg en promedio.

De la misma manera, el número de montas que preceden a la eyaculación (Figura 5) se incrementó de manera significativa por el tratamiento neonatal con CLI ($p < 0.0005$). Los animales CLI presentan 15 montas en promedio en comparación con las 5 montas del grupo control. Cuando se comparó el número de intromisiones necesarias para alcanzar la eyaculación, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre ambos tratamientos (figura 5). En relación a la frecuencia de eyaculación, se observó que la administración de CLI disminuyó drásticamente este parámetro (Figura 5). La frecuencia de eyaculación decreció a la mitad en promedio respecto al grupo control ($p < 0.0005$).

En relación al intervalo interintromisión que se observa en la figura 6, el análisis estadístico también mostró diferencias significativas ($p < 0.005$). Así, los animales CLI presentaron un incremento significativo en el tiempo que transcurre entre cada intromisión. Por otro lado, los animales tratados neonatalmente con CLI disminuyen su tasa de aciertos como consecuencia del incremento en el número de montas n (figura 6; $p < 0.005$).

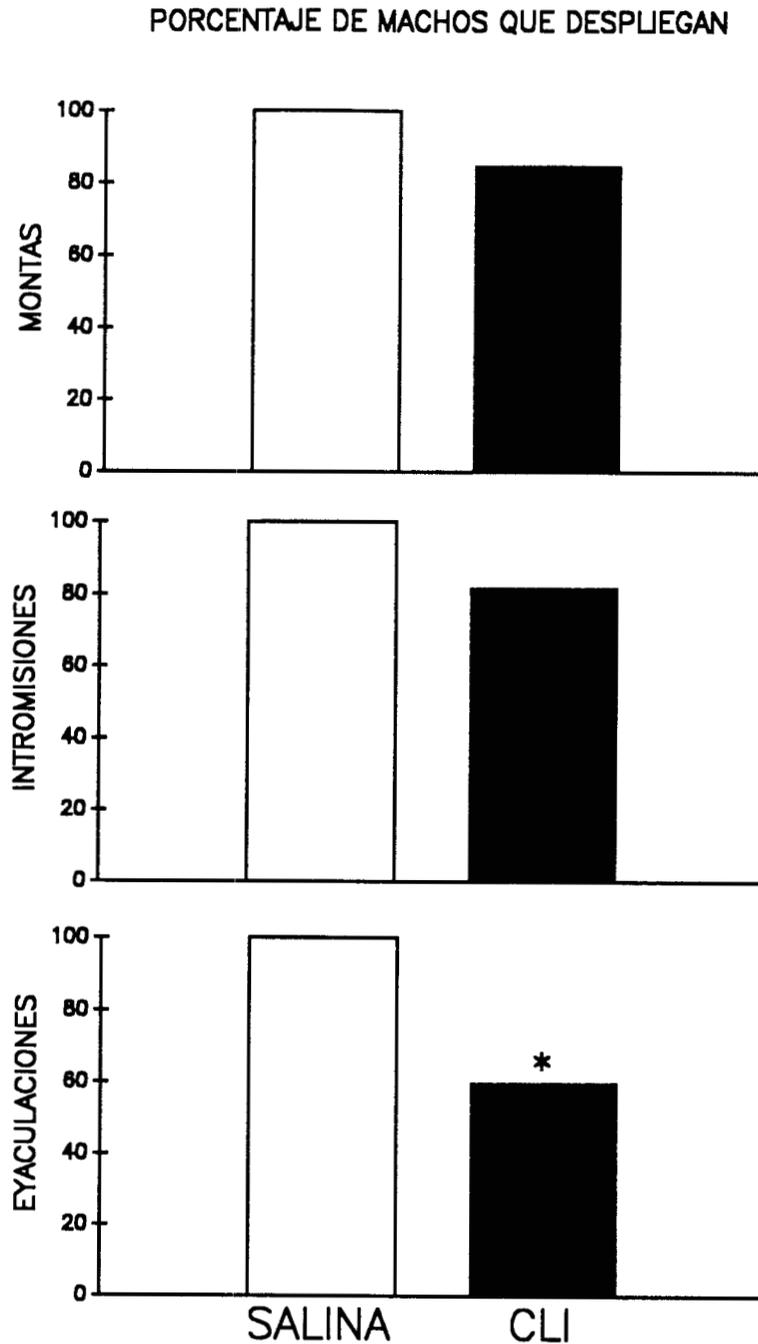


Figura 3. Porcentaje de ratas que despliegan el patrón de montas, de intromisión y eyaculación tratadas neonatalmente con solución salina (Control) y con clomipramina (CLI). En el porcentaje de machos que presentan montas, intromisiones no hubieron diferencias significativas, sin embargo disminuye importantemente el porcentaje de machos que despliegan el patrón de eyaculación, X^2 , Media \pm E.E.M, * $p < 0.01$.

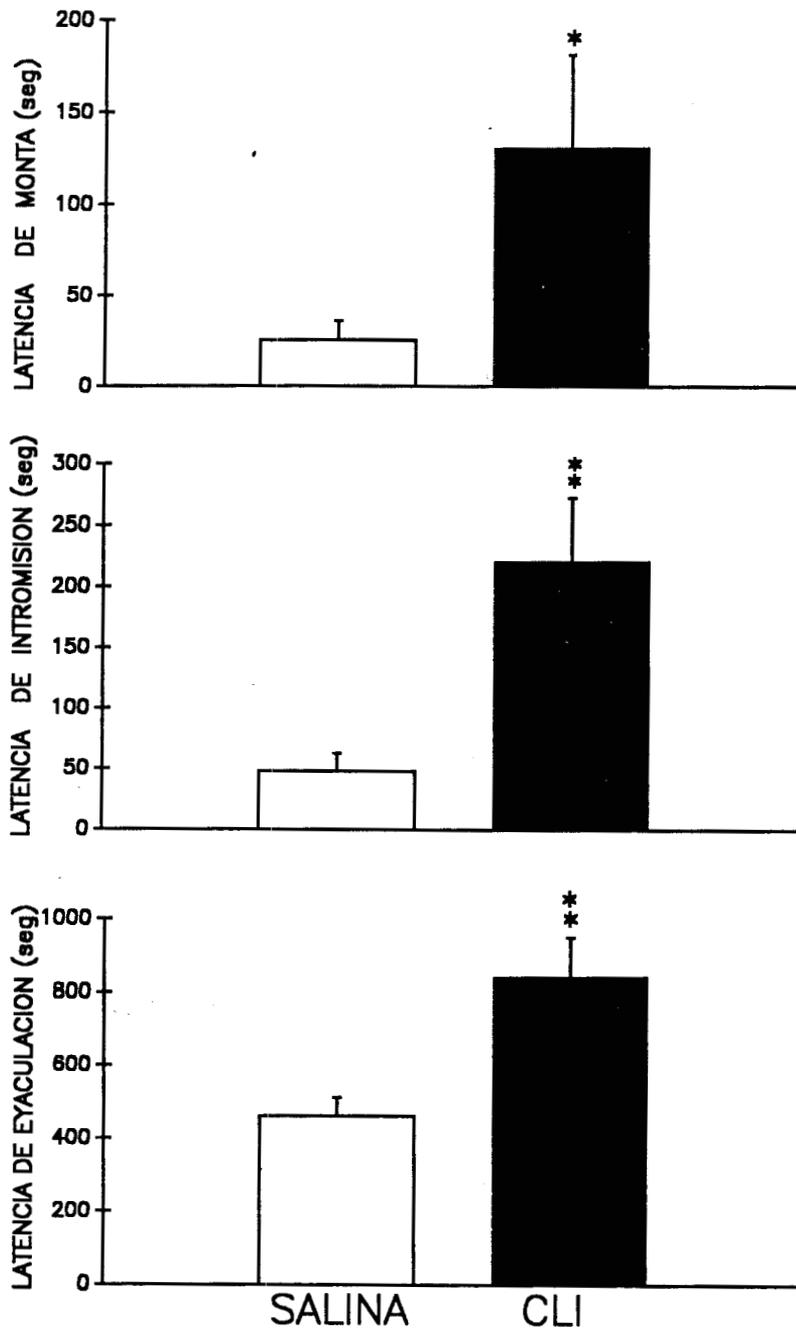


Figura 4. Efecto de la administración neonatal de solución salina y CLI sobre la latencia de monta, de intromisión y de eyaculación en ratas que despliegan la conducta copulatoria en la edad adulta. Las mayores latencias se observaron en ratas sometidas a CLI. Prueba de U de Mann-Whitney. Media \pm E.E.M, * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$.

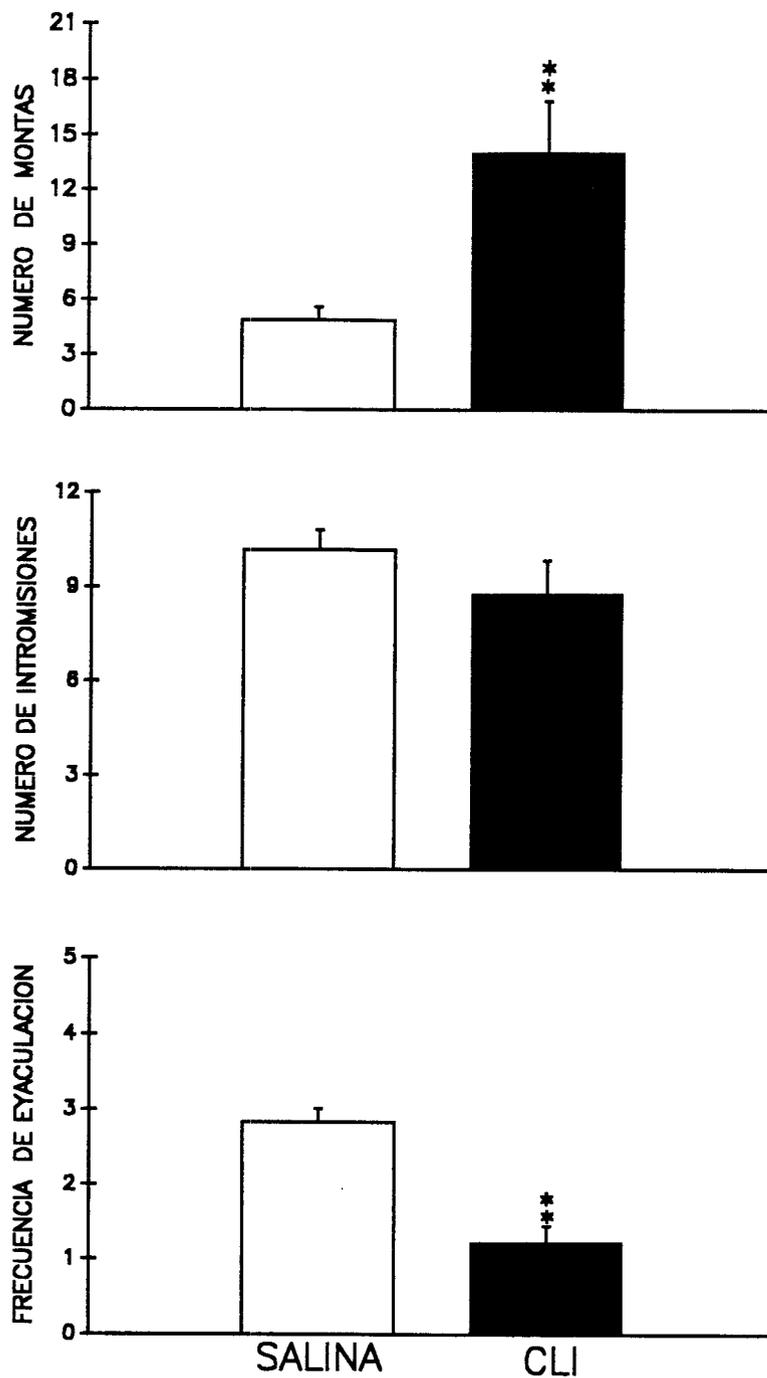


Figura 5. Efecto de la administración neonatal de CLI o salina sobre el número de montas, de intromisiones, así como en la frecuencia de eyaculación. En el grupo CLI se incrementó el número de montas, mientras que la frecuencia de eyaculación disminuyó. Prueba de U de Mann-Whitney. Media \pm E.E.M, ** $p < 0.005$.

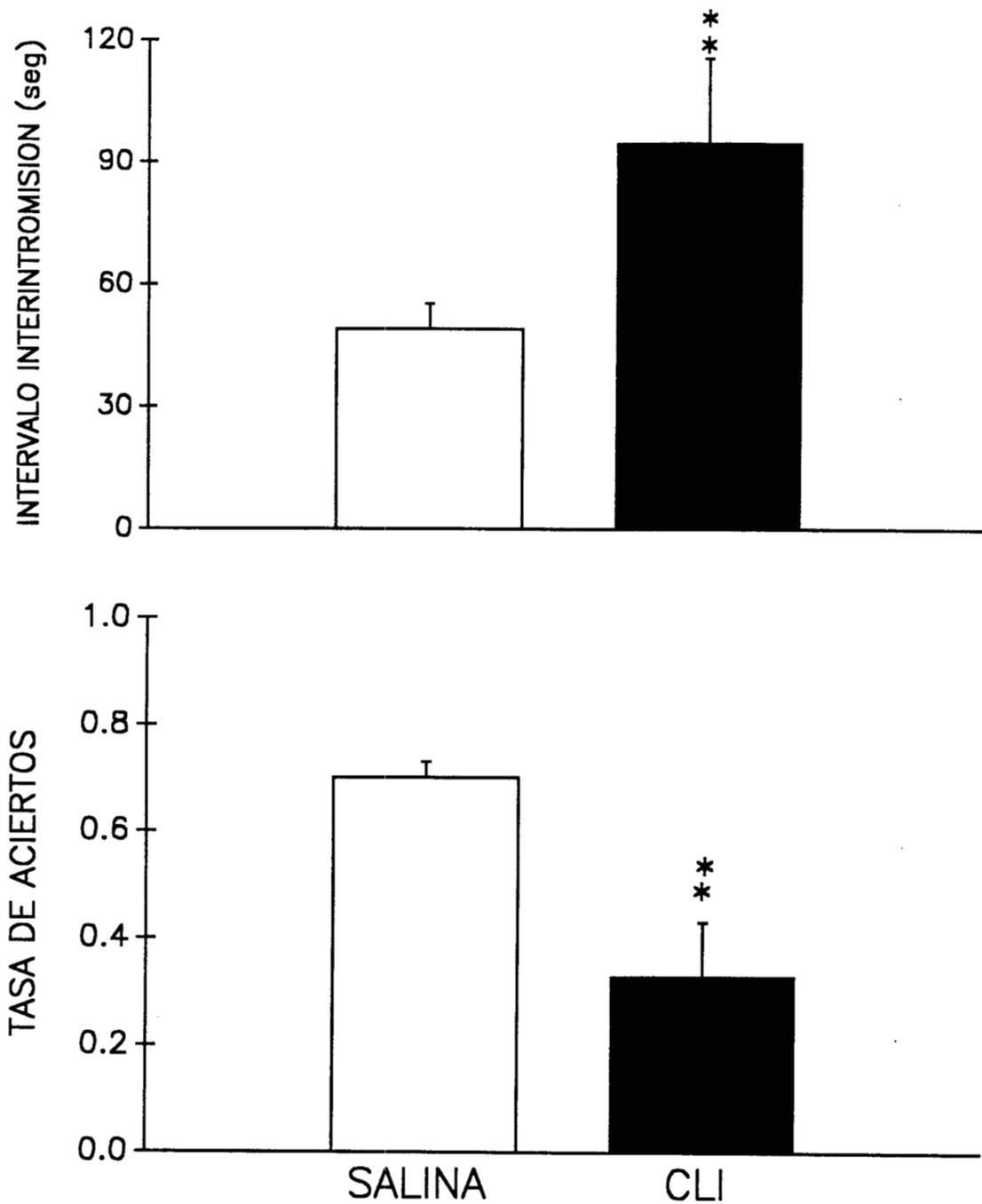


Figura 6. Modificaciones en el Intervalo Interintromisión y la tasa de aciertos en respuesta al tratamiento neonatal con CLI y solución salina. En los animales CLI se incrementó el tiempo que transcurre entre cada intromisión. Por el contrario, la tasa de aciertos disminuyó. Prueba de U de Mann-Whitney. Media \pm E.E.M, ****p<0.005**.

En resumen, los resultados obtenidos con los animales tratados neonatalmente con CLI muestran un marcado deterioro de la conducta sexual durante la edad adulta dado que se produjo un incremento en las latencias de monta, de intromisión, de eyaculación, el número de montas y el intervalo interintromisión. Además de una disminución en la tasa de aciertos, en la frecuencia de eyaculación y en el porcentaje de sujetos que presentan el patrón de eyaculación.

Efecto de la administración neonatal de CLI en la prueba de Nado forzado

Los resultados obtenidos en la prueba de nado forzado durante 15 minutos se observan en la figura 7. El tiempo de inmovilidad se incrementó significativamente en los animales tratados neonatalmente con CLI respecto al grupo control, alcanzando valores de 720 segundos en promedio ($p < 0.001$) contra 610 segundos en promedio del grupo control. De manera similar, el análisis estadístico mostró diferencias significativas durante la prueba de 5 minutos 24 horas más tarde (Figura 7).

Efecto de la administración de Yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT sobre la conducta sexual masculina.

La administración de los diferentes fármacos que estimulan la conducta sexual en los animales tratados neonatalmente con solución salina en la edad adulta (grupo control), se modificaron de manera similar los parámetros de la conducta sexual masculina; sin embargo, en los animales tratados neonatalmente con CLI se modificaron algunos parámetros dependiendo del tratamiento al que fueron expuestos.

El análisis estadístico para comparar la latencia de monta indicó que no existe diferencia alguna en ninguna de las series eyaculatorias con la administración de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT, tanto en el grupo control como en los animales tratados neonatalmente con CLI (figura 8). Este parámetro solo tiende a disminuir con la administración del 8-OH-DPAT en los animales tratados neonatalmente con CLI presentando latencias de monta cercanas a los 20 segundos en promedio (figura 8, panel inferior).

En las latencias de intromisión del grupo control (figura 9) no se observaron diferencias en los efectos causados por la administración de cada uno de los tratamientos, este parámetro mostró tendencias a disminuir sin llegar a ser estadísticamente significativo.

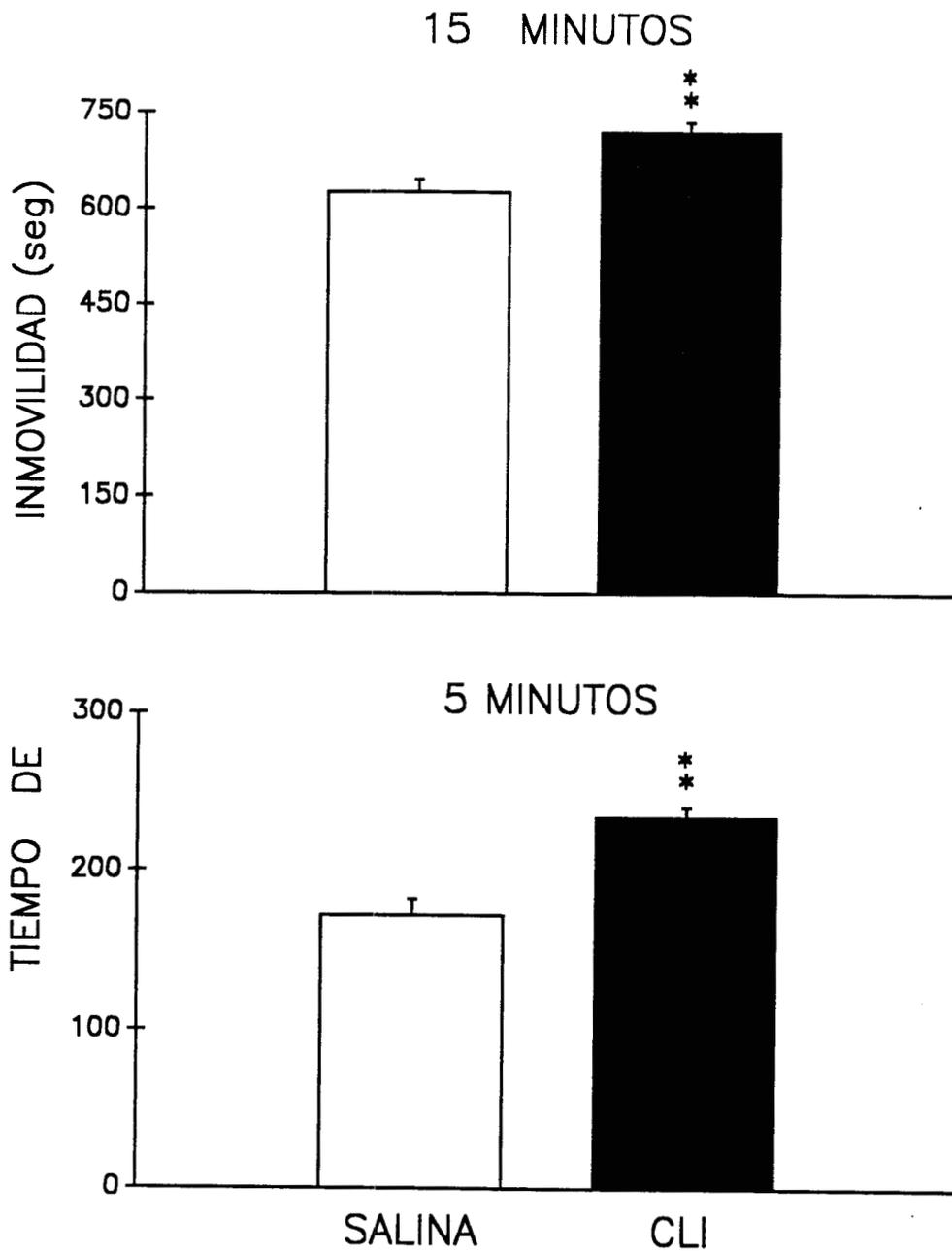


Figura 7. Tiempo de inmovilidad durante la prueba de nado forzado de 15 min y 5 min en la edad adulta en ratas sometidas al tratamiento neonatal con solución salina y CLI. En ambas pruebas se observó un incremento en el tiempo de inmovilidad en el grupo de ratas CLI. T de Student. Media \pm E.E.M, ** $p < 0.001$.

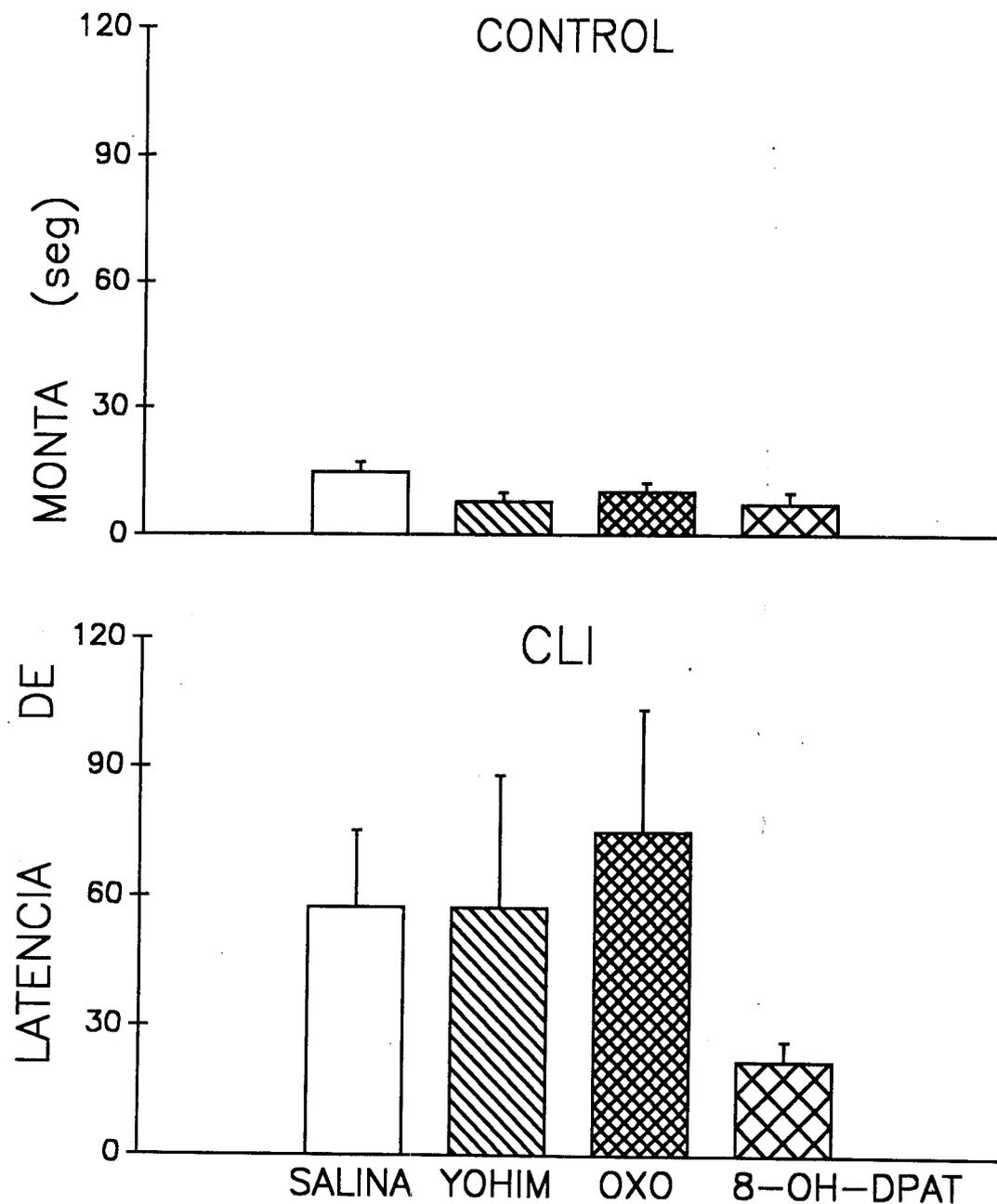


Figura 8. Efecto de la administración de salina, yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT sobre la latencia de monta en ratas control y CLI. Ninguno de los fármacos causaron diferencias significativas, aún con la administración con el 8-OH-DPAT hay una tendencia a disminuir marcadamente. Media \pm E.E.M.

Sin embargo, en los animales CLI se observó una marcada disminución solamente con la administración del 8-OH-DPAT, alcanzando significancia estadística { $H(3)=35.40$; $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$ } al presentar latencias de intromisión de 25 seg en promedio semejante al grupo control tratado con solución salina (24 seg; figura 9, panel superior). La administración de OXO, por el contrario, incrementó cerca del doble la latencia de intromisión en los animales CLI (230 seg).

Respecto a la latencia de eyaculación, el análisis de varianza mostró un decremento significativo con la administración de yohimbina, OXO, y 8-OH-DPAT en el grupo control { $H(3)= 18,29$, $p < 0.0004$ } (figura 10, panel superior). En la primera serie eyaculatoria el grupo control alcanzó latencias de 160 seg en promedio con la administración de yohimbina y 8-OH-DPAT, mientras que con el tratamiento con OXO cerca de 220 seg en promedio. Estas diferencias significativas se mantienen durante la segunda y tercera serie eyaculatoria con la administración de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT (Tabla 1). Por otro lado, el análisis estadístico para comparar la administración de cada uno de los tratamientos farmacológicos en los animales CLI, mostró que existen disminuciones significativas solamente con la inyección de yohimbina y 8-OH-DPAT { $H(3)= 22.78$ $p < 0.0001$ } (figura 10, panel inferior). Las latencias de eyaculación en el grupo CLI fueron menores cuando se administró 8-OH-DPAT (Dunn; $p < 0.01$) al presentar latencias de 200 seg en promedio, mientras que con la administración de yohimbina fueron de 350 seg en promedio (Dunn; $p < 0.05$).

Referente al número de montas que preceden a la eyaculación (figura 11), todos los tratamientos utilizados en este trabajo causaron una disminución significativa en la primera serie eyaculatoria en el grupo control { $H(3)= 17.45$; $p < 0.0006$ } (figura 11, panel superior). Este efecto se mantiene hasta la segunda serie eyaculatoria con la administración de yohimbina y el 8-OH-DPAT { $H(3)= 14.97$; $p < 0.001$; Dunn $p < 0.01$ }, sin embargo, este efecto no se observó con el tratamiento con OXO, a pesar de que se presenta una tendencia marcada a disminuir con respecto a la administración de solución salina en el grupo control que no alcanza a ser significativamente diferente (Tabla 1).

Por otro lado, la administración de yohimbina y OXO en las ratas CLI mostró una tendencia a disminuir el número de montas que preceden a la eyaculación sin llegar a ser

significativa (figura 11, panel inferior). Los efectos más dramáticos se observaron en la primera serie eyaculatoria con la administración de 8-OH-DPAT [$H(3)=28.28$ $p < 0.001$; Dunn $p < 0.01$], ya que el número de montas disminuyó significativamente, de 16 montas en las ratas CLI con solución salina a 2 con la administración de 8-OH-DPAT. No se detectaron diferencias significativas en ninguna de las siguientes series copulatorias cuando se hicieron las diferentes confrontaciones (Tabla 1).

Respecto al número de intromisiones que preceden a la eyaculación, todos los fármacos utilizados en este trabajo disminuyeron este parámetro tanto en la primera como en la segunda serie eyaculatoria (figura 12, panel superior). Los mayores efectos se observaron con la administración de OXO y 8-OH-DPAT { $H(3)= 20.04$; $p < 0.0002$; Dunn $p < 0.01$ }, que con la administración de yohimbina (Dunn $p < 0.05$), en los cuales el número de intromisiones disminuyó a la mitad en promedio respecto a la administración de solución salina. Solo el tratamiento con OXO mantuvo las diferencias significativas hasta la tercera serie eyaculatoria en el grupo control (Tabla 1).

Como se puede advertir el tratamiento con yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT disminuye sistemáticamente el número de intromisiones necesarias para alcanzar la eyaculación en el grupo control, sin embargo, en las ratas CLI ésta disminución alcanza a ser estadísticamente significativa { $H(3)= 15.26$; $p < 0.001$ } solamente con la administración de OXO y 8-OH-DPAT en la primera serie eyaculatoria (figura 12, panel inferior). Esta disminución es más notable cuando se administró 8-OH-DPAT (Dunn $p < 0.01$) que por el efecto de la OXO (Dunn $p < 0.05$). En las siguientes series eyaculatorias no se modificó el número de intromisiones con ningún tratamiento en las ratas CLI (Tabla 1).

El efecto facilitatorio de los diferentes tratamientos farmacológicos se refleja en la frecuencia de eyaculación en el grupo control como se observa en el panel superior de la figura 13. Cuando se compararon los resultados obtenidos con la administración de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT respecto a la solución salina, los tres fármacos mostraron un aumento estadísticamente significativo en este parámetro { $H(3)= 15.97$; $p < 0.001$; Dunn, $p < 0.01$ }.

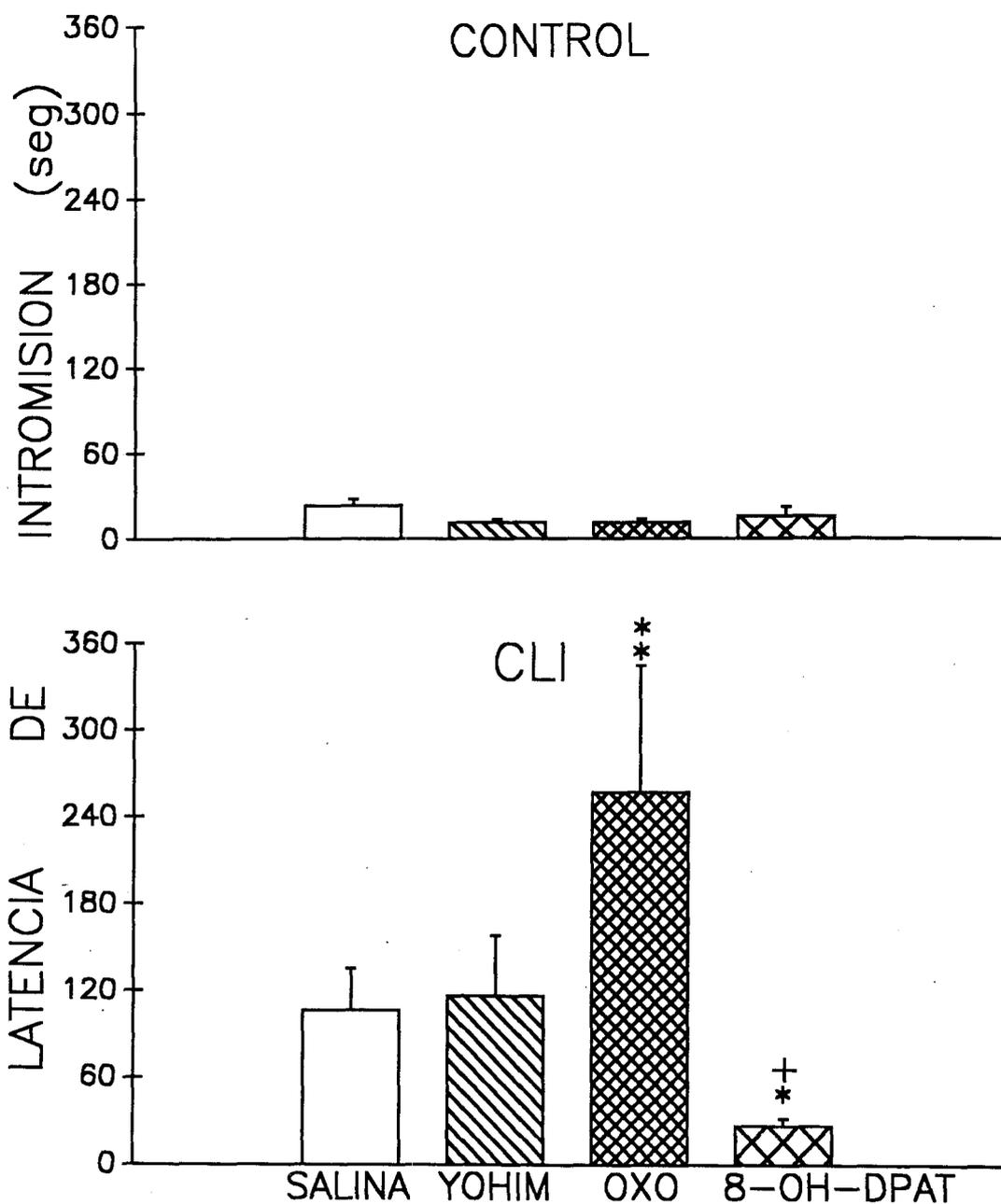


Figura 9. Efecto de la administración de fármacos adrenérgicos, colinérgico y serotoninérgico sobre la latencia de intromisión en ratas tratadas neonatalmente con salina y CLI. La menor latencia se observó con la administración de 8-OH-DPAT, mientras que la OXO incrementa más este parámetro en las ratas CLI. No se observaron cambios en las ratas control. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. Media \pm E.E.M, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; + $p < 0.05$.

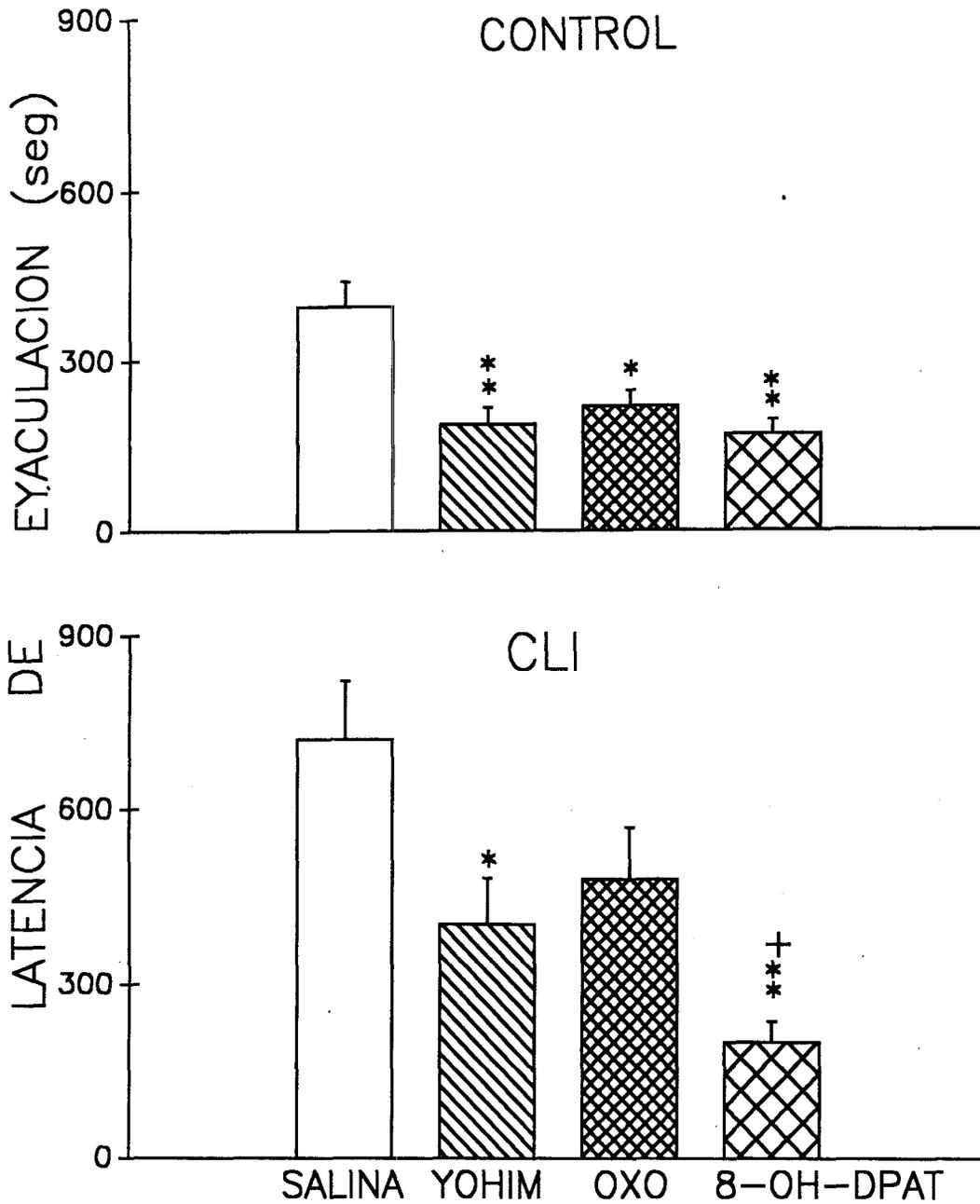


Figura 10. Efecto de los diferentes fármacos aplicados a ratas control y CLI sobre la latencias de eyaculación. El efecto facilitatorio de la yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT se observa al disminuir las latencias de eyaculación en las ratas control, mientras que en las ratas CLI solo la yohimbina y el 8-OH-DPAT disminuyen este parámetro. Observe que los valores de yohimbina en ratas CLI son similares a las controles con salina. ANOVA de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. Media \pm E.E.M, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; + $p < 0.05$.

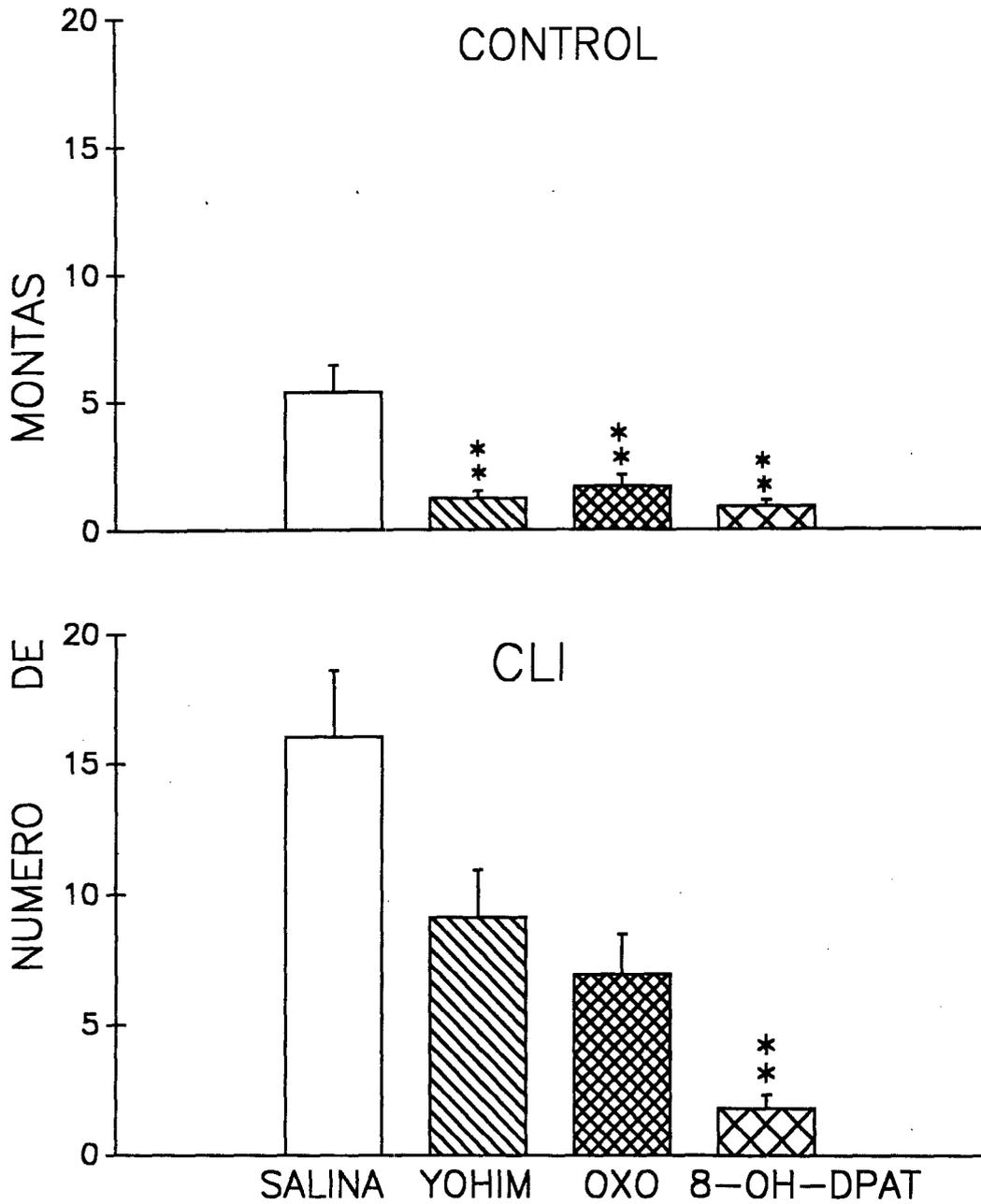


Figura 11. Efecto de la aplicación de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT en el número de montas de ratas control y ratas CLI. Todos los fármacos causaron una disminución en este parámetro en las ratas control, mientras que solo el 8-OH-DPAT en los animales CLI. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. Media \pm E.E.M, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; + $p < 0.05$.

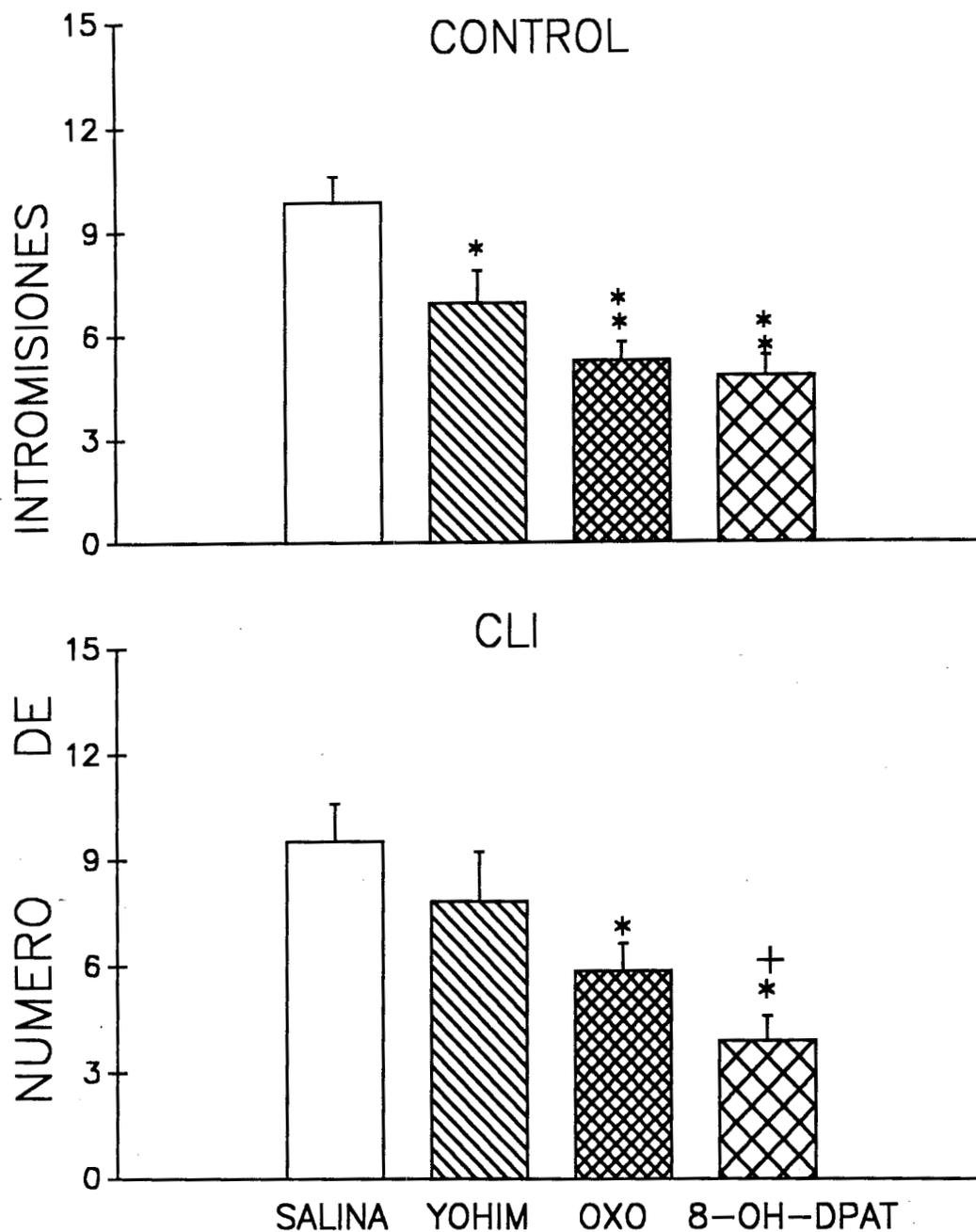


Figura 12. Modificación del número de intrusiones en animales control y CLI sometidos a la administración de fármacos adrenérgicos, colinérgico y serotoninérgico. La administración de OXO y 8-OH-DPAT redujo el número de intrusiones en los dos grupos de animales a excepción de la yohimbina que sólo modificó este parámetro en las ratas control. ANOVA-Wallis seguida de la prueba de Dunn. Media \pm E.E.M. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; + $p < 0.05$.

El análisis estadístico para comparar la frecuencia de eyaculación en las ratas CLI (figura 13, panel inferior), indica que existen diferencias significativas solamente cuando se administró el 8-OH-DPAT { $H(3) = 15.26$; $p < 0.001$; Dunn $p < 0.01$ }, aumentando hasta el doble en el grupo CLI respecto a los demás tratamiento. Así, en la frecuencia de eyaculación también se comprueba el efecto facilitador del 8-OH-DPAT en los animales CLI, efecto que se refleja en el grupo control al aplicar cada uno de los tratamientos, sin embargo, ésta facilitación no se detecta en los animales CLI cuando se les administró yohimbina y OXO al mantener los animales una baja frecuencia de eyaculación similar al grupo CLI tratado con solución salina.

Referente a la tasa de aciertos el grupo control no presentó diferencias significativas con ningún tratamiento en ninguna de las series eyaculatorias (Tabla 1), a pesar de que se observa una leve tendencia a incrementarse en todos los grupos (figura 14). Sin embargo, como un reflejo de la disminución en el número de montas en los animales CLI, la tasa de aciertos o hit rate se incrementó de manera significativa cuando fueron sometidos al tratamiento con 8-OH-DPAT. El efecto de éste tratamiento solo se presentó en la primera serie eyaculatoria (TABLA 1). En relación al intervalo interintromisión promedio y al intervalo posteyaculatorio, estos no se modificaron significativamente con ningún tratamiento farmacológico en ninguno de los grupos de ratas tratadas neonatalmente con solución salina y con CLI, razón por la que no se muestran los datos de manera gráfica.

Por último, el porcentaje de machos que montan, intromiten y eyaculan en la primera, segunda y tercera serie copulatoria en los animales tratados neonatalmente con solución salina y CLI a los cuales se les administró yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT se muestran en la figura 15 y 16 respectivamente. Los resultados en el porcentaje de machos que despliegan el patrón de montas, de intromisión y de eyaculación no muestra diferencia alguna con la administración de ningún tratamiento farmacológico, tanto en la primera como en la segunda serie eyaculatoria en el grupo control, es decir cerca del 90% de los machos montan, intromiten y eyaculan (figura 15). Sin embargo, en la tercera serie eyaculatoria, la administración de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT incrementaron el porcentaje de machos que presentan el patrón de montas, de intromisión y de eyaculación, pero el análisis estadístico solo mostró diferencias significativas en el patrón de eyaculación.

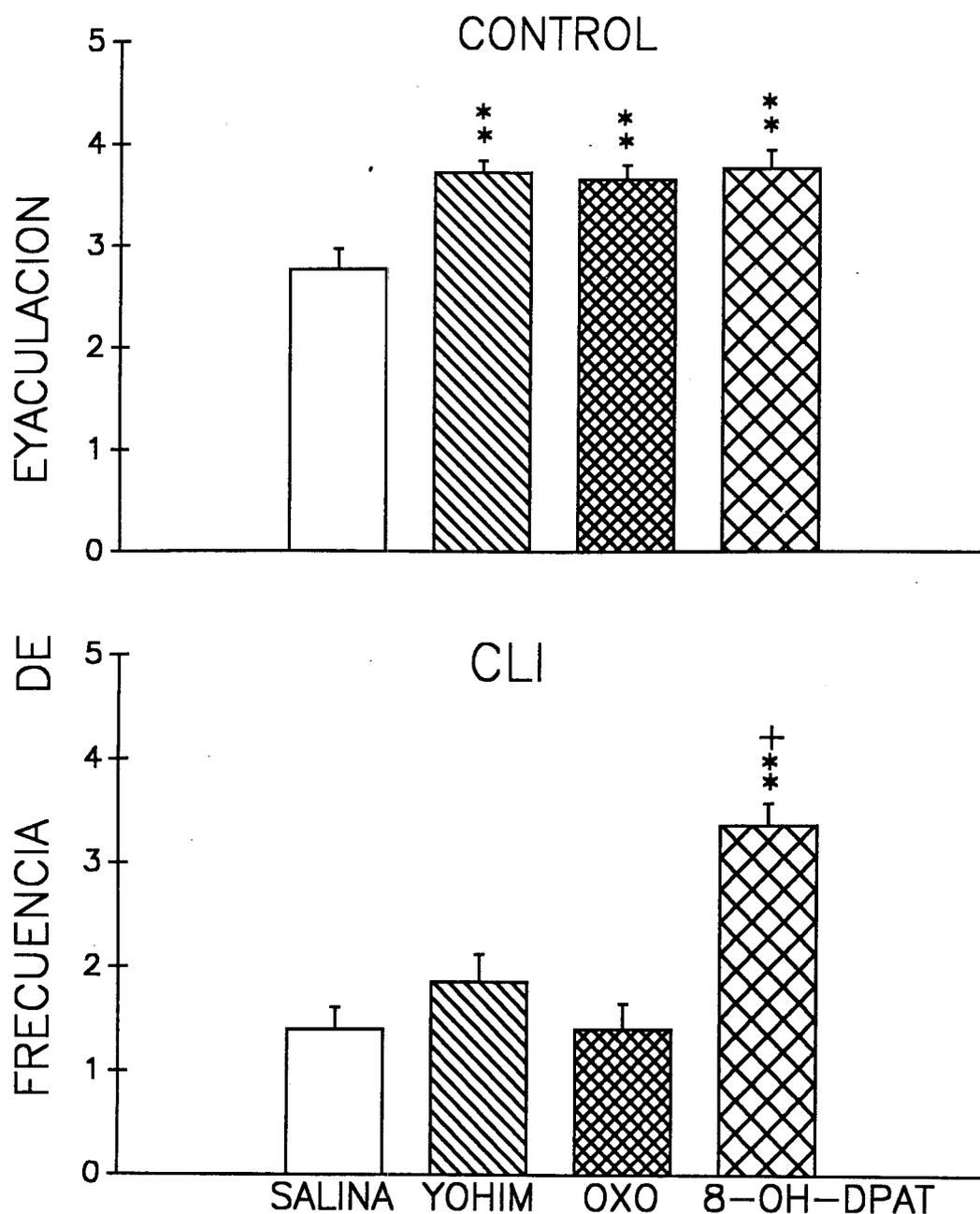


Figura 13. Efecto de la administración de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT sobre la frecuencia de eyaculación en ratas tratadas neonatalmente con solución salina (Control) y CLI. En el grupo control todos los fármacos incrementaron la frecuencia de eyaculación, mientras que en los animales CLI solo el 8-OH-DPAT incrementa este parámetro. ANOVA Kruskal Wallis seguida de la prueba de Dunn. Media ± E.E.M, ** p<0.01; + p<0.05.

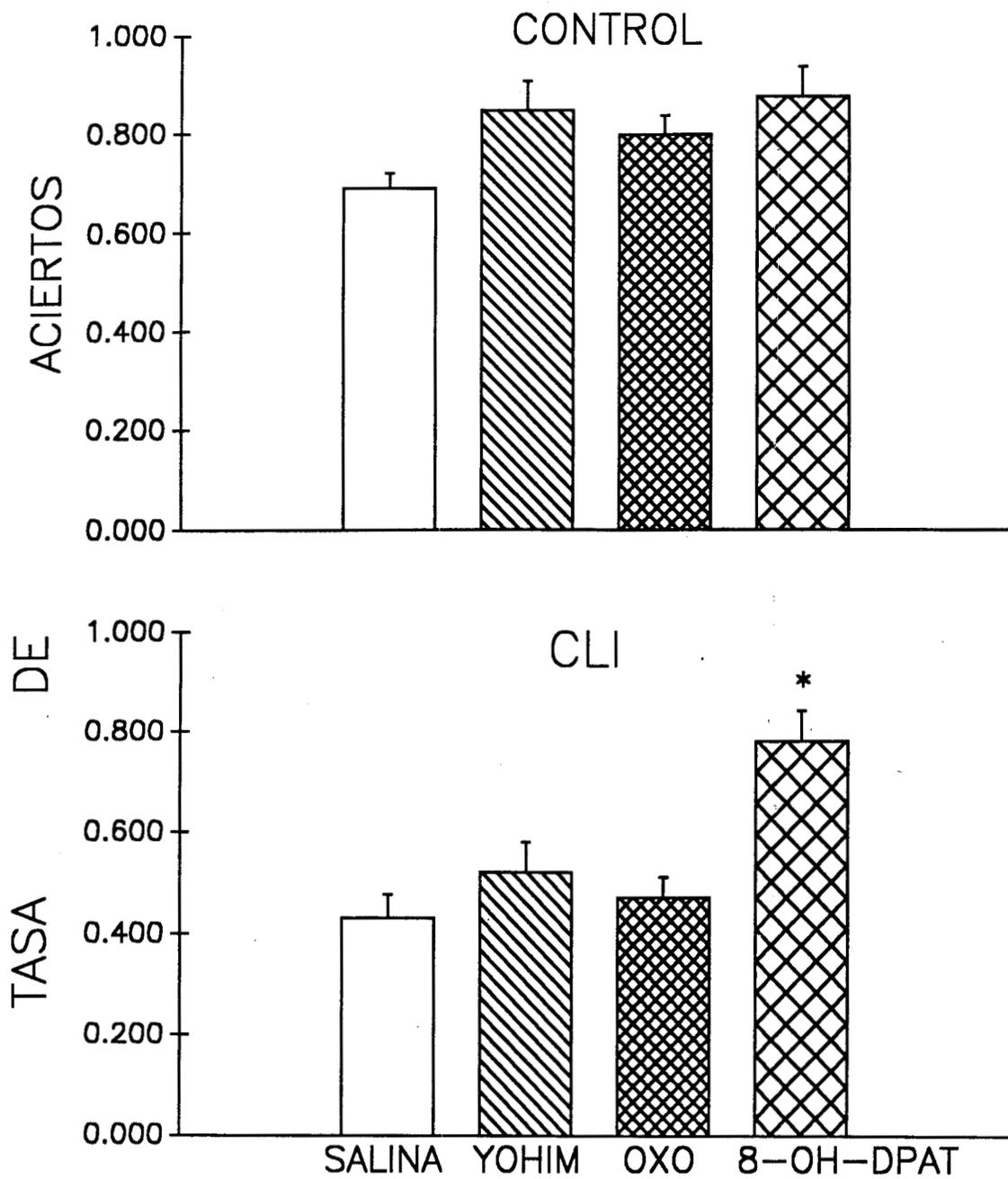


Figura 14. Efecto de la aplicación de los diferentes fármacos que estimulan la conducta sexual en ratas control y CLI. Sólo la administración de 8-OH-DPAT incrementa la tasa de aciertos en los animales deprimidos. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. Media \pm E.E.M, * $p < 0.05$.

En el grupo CLI el porcentaje de machos que montan, intromiten y eyaculan no se modificó en la primera, segunda o tercera serie eyaculatoria tanto con la administración de yohimbina como con OXO (figura 16). Estos efectos se observaron de manera similar con los animales CLI tratados con solución salina utilizada como vehículo, por lo que no hay diferencias alguna. En la primera serie eyaculatoria cerca del 90% de los animales CLI presentan el patrón de montas e intromisión, mientras que solo el 60% de los machos alcanzan a eyacular aún con la administración de yohimbina y OXO. Conforme avanzan las siguientes series eyaculatorias típicamente disminuye el porcentaje de machos que montan, intromiten y eyaculan en cada una de las series eyaculatorias, es decir solo el 8-OH-DPAT revierte la incapacidad de algunos machos para eyacular, incrementando la proporción de machos que eyaculan (Figura 16, $p < 0.05$)

Niveles de Corticosterona y Testosterona

Los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona basal se muestran en la figura 17. El análisis estadístico mostró que los niveles plasmáticos basales tanto de corticosterona como de testosterona no se modificaron por el tratamiento neonatal con CLI.

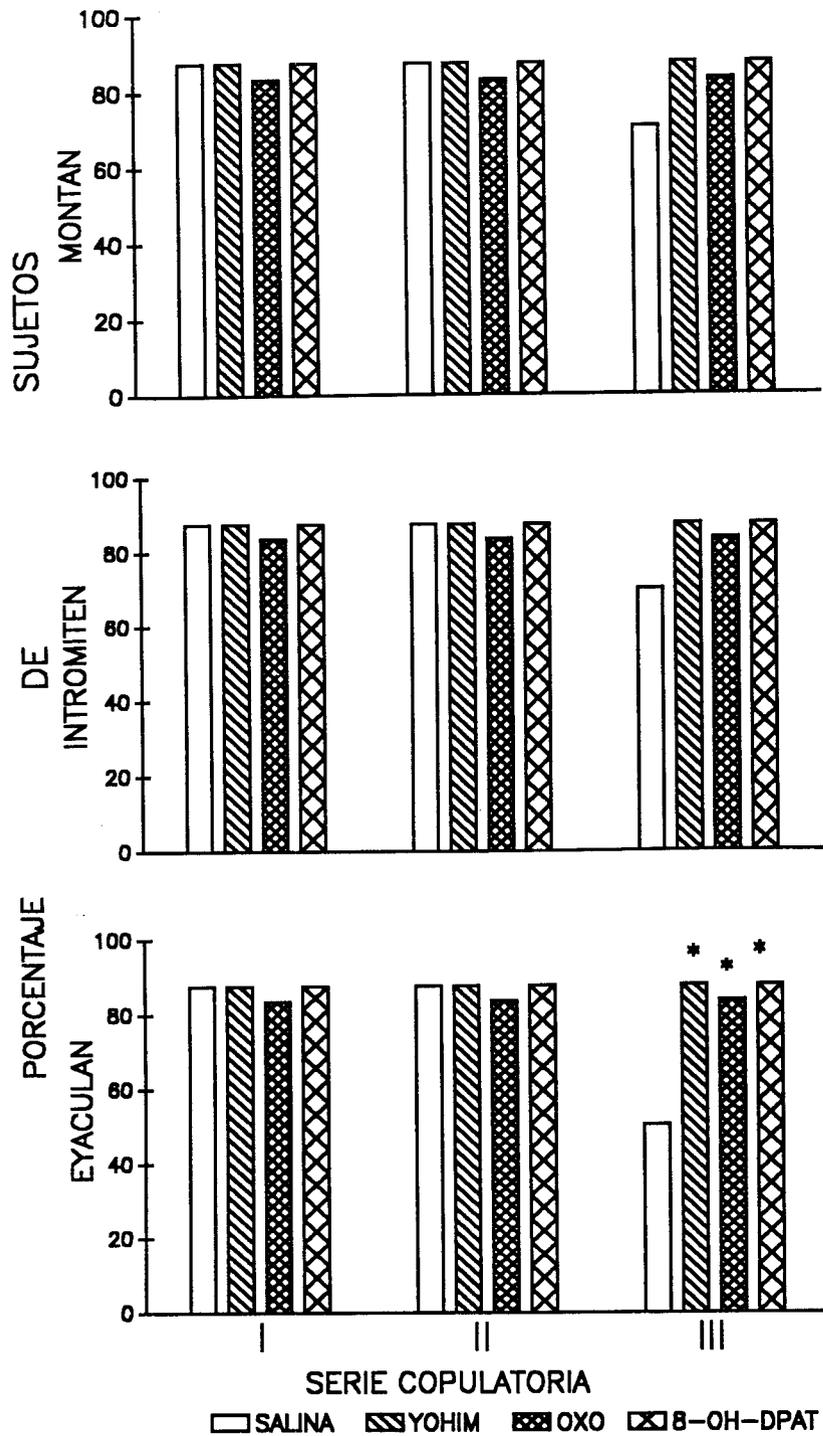


Figura 15. Porcentaje de machos del grupo control que presentaron montas, intromisiones y eyaculaciones con la administración de los diferentes tratamientos farmacológicos. El porcentaje de machos que montan e intromiten no se modificó, solo el porcentaje que eyaculan se incrementó en la tercera serie copulatoria con la administración de los diferentes fármacos. Media \pm E.E.M , X^2 ** $p < 0.001$.

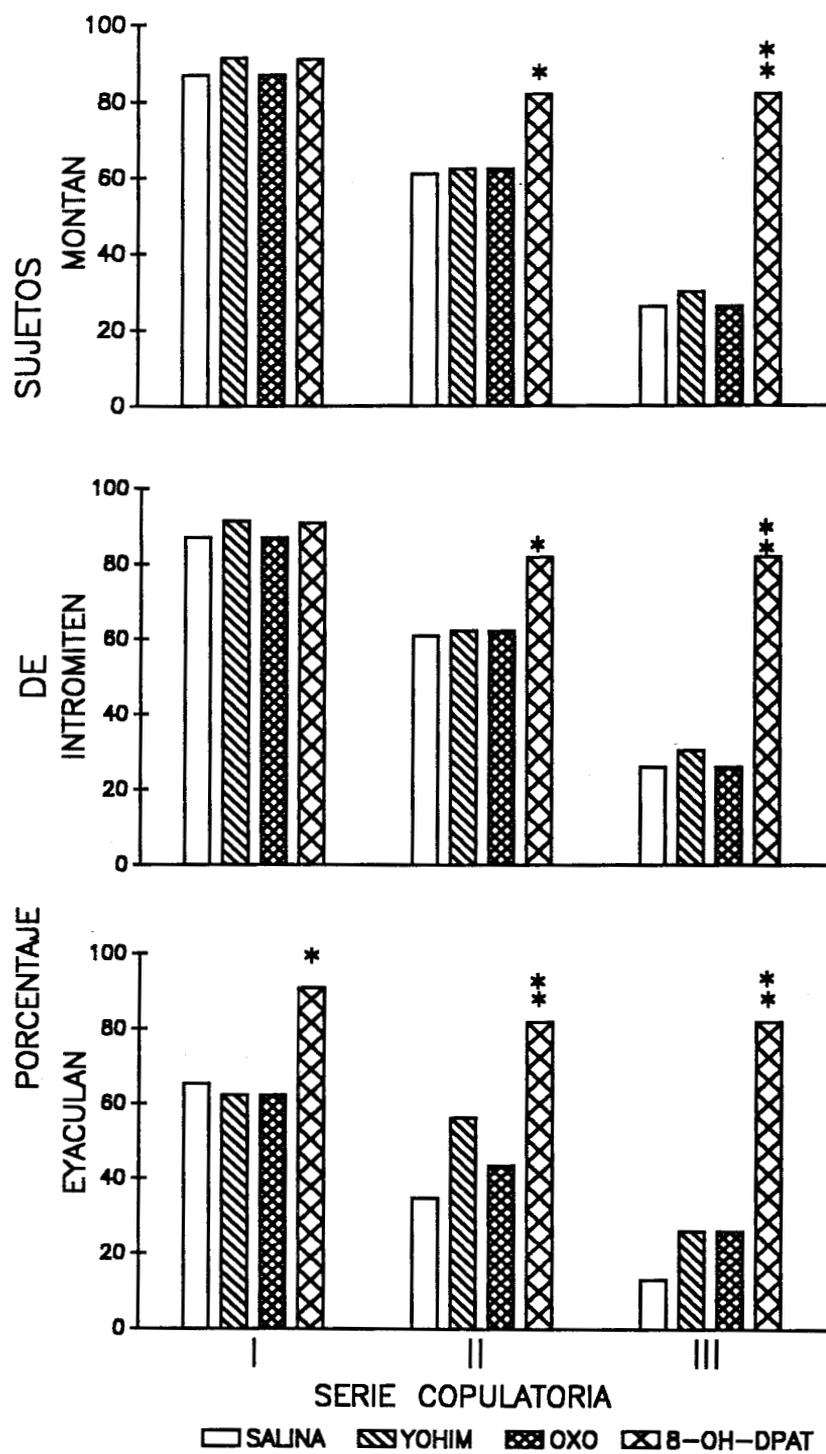


Figura 16. Porcentaje de machos del grupo CLI que despliegan el patrón de montas, de intromisiones y de eyaculaciones con la administración de yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT. Solo la administración del 8-OH-DPAT incrementó el porcentaje de machos que mostraron los tres patrones motores en las tres series copulatorias alcanzando a ser estadísticamente significativo. La administración de yohimbina, OXO y solución salina no causaron cambios. Media \pm E.E.M , X^2 * p <0.05; ** p <0.001.

TABLA1. Parámetros sexuales de las ratas controles y CLI con la administración de yohimbina, OXO, 8-OH-DPAT y solución salina en las diferentes series copulatorias.

Primera Serie Copulatoria									
	FE	LM	LI	LE	NM	NI	III	HR	PR
CONSAL	2.7±.16	14.6± 2.4	23.4±4.4	393±45	5.3± 1	9.8±0.7	41±4.0	0.69±.04	361±19
CLISAL	1.4±.20	57.4±17.3	106±27.6	762±90	16±2	8.8±1.0	108±22	0.39±.04	371±16
CONYOHIM	3.7±0.1**	9.2±2.1	11.5± 2.4	163±19*	1.2±0.3*	6.5±0.8**	30±4.2	0.85±.03	340±18*
CLIOYOHIM	1.7±0.2	80.4±54	79.1±18	347±67	9.1±1.8	7.8±1.3	52±7.7	0.53±.05	489±61
CONOXO	3.6±0.1*	11±2.09	11.7±2	218±27*	1.7±0.4**	5.2±0.5*	48±6.7	0.80±.04	280±34*
CLIOXO	1.5±0.2	47.0±11.8	231±84	434±80	6.9±1.5	5.8±0.8	80±13	0.50±.04	536±72
CON8-OH	3.7±0.2**	4.2±6.3	5.9±6.6	168±25*	0.9±0.2**	4.8±0.5**	36±4	0.80±.03	304±26*
CLI8-OH	3.5±.15	8.7±3.9	24.4±5.1	200±34	1.7±0.5	4.1±0.6	76±22	0.80±.04	354±21
Segunda Serie Copulatoria									
	LE	NM	NI	III	HR	PR			
CONSAL	228±29.6	4.5±0.9	5.8±0.4	41.2±4.8	0.62±.04	361.5±12.70			
CLISAL	262±38.2	8.5±2.2	4.3±0.4	65.0±9.7	0.43±.08	404.5±31.86			
CONYOHIM	113±14.3**	2.0±0.4 **	3.9±0.3*	29.5±2.8	0.71±.05	413.9±24.10			
CLIOYOHIM	217±47.5	6.5±1.1	4.7±0.6	50.0±8.5	0.45±.05	568.8±59.06			
CONOXO	131±16.9*	2.1±0.4 *	3.7±0.2**	37.4±3.2	0.69±.03	338.6±33.92			
CLIOXO	303±40.1	7.2±2.2	4.2±0.4	70.7±17.4	0.50±.08	475.4±36.60			
CON8-OH-DPAT	139±29.7**	1.5±0.2**	3.8±0.5**	38.5±5.9	0.74±.03	782.2±68.80			
CLI8-OH-DAPT	206±50.8	3.6±0.8	4.8±0.6	39.9±7.2	0.67±.05	880.3±58.23			
Tercera Serie Copulatoria									
	LE	NM	NI	III	HR				
CONSAL	169±33.5	3.8±0.5	5.0±0.3	32.5±4.2	0.58±.04				
CLISAL	292±120.8	5.0±0.9	5.6±1.3	45.9±7.8	0.52±.09				
CONYOHIM	133±19.8*	3.4±0.6	4.2±0.4	39.0±6.8	0.58±.04				
CLIOYOHIM	391±207	2.3±0.5	5.0±0.6	79.5±41.3	0.70±.03				
CONOXO	181±20.9	2.7±0.6	3.4±0.3	74.6±21.2	0.62±.05				
CLIOXO	195±53.3	4.5±1.4	4.0±1.0	54.2±8.82	0.48±.06				
CON8-OH-DPAT	139±18.7*	2.2±0.3	3.8±0.2	40.4±5.4	0.67±.04				
CLI8-OH-DPAT	156±24.1	3.1±0.5	3.8±0.3	44.2±8.0	0.60±.04				

LM=latencia de monta; LI=latencia de intromisión;LE=latencia de eyaculación; NM=número de montas; NI=número de intromisiones;FE=frecuencia de eyaculación; III=intervalo interintromisión;HR=hit rate o tasa de aciertos. ANOVA de Kruskal-Wallis seguida de Dunn. *p<0.05 ; **p<0.01 respecto a CONSAL , +p<0.05 ; ++p<0.01 respecto a CLISAL.

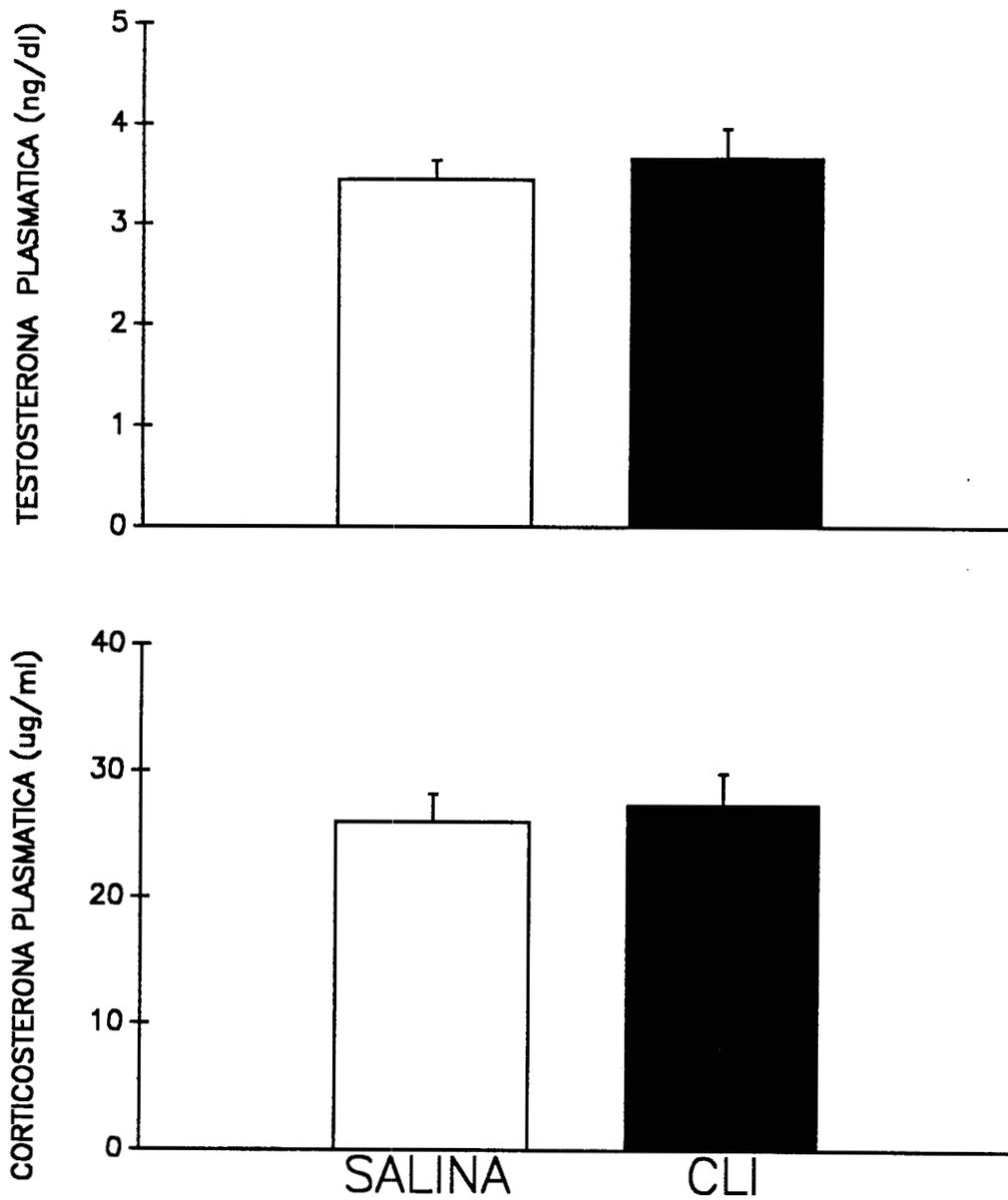


Figura 17. Niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona en el grupo control y el grupo CLI. El tratamiento neonatal con CLI no modifica los niveles plasmáticos de hormonas.

DISCUSION

Los resultados muestran que el tratamiento neonatal con CLI en la rata macho afecta marcadamente diferentes aspectos de la conducta copulatoria. Además de incrementar el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado en las versiones de 15 y 5 minutos, en la edad adulta. En la medición de los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona no se detectaron diferencias. Por otro lado, la administración de los diferentes fármacos, yohimbina, OXO y 8-OH-DPAT, sobre la conducta sexual en las ratas control provocan efectos similares. Disminuyendo la latencia de eyaculación, el número de montas y el número de intromisiones que preceden a la eyaculación, además de incrementar la frecuencia eyaculatoria. En el caso de la administración de los fármacos en las ratas CLI, la yohimbina restaura solamente un parámetro de la conducta sexual, la latencia de eyaculación. De manera similar, el tratamiento con OXO solamente disminuye el número de intromisiones. Sin embargo, la administración de 8-OH-DPAT no solo restablece sino que estimula la conducta sexual al disminuir la latencia de intromisión y de eyaculación, el número de montas y el número de intromisiones, además de incrementar la frecuencia de eyaculación y la tasa de aciertos.

Resultados similares en los parámetros copulatorios en la rata macho han sido descritos por otros autores con la exposición crónica a CLI (Mirmiran, 1981, 1983; Vogel, 1982 ; 1996; Neill 1990; Velazquez-Moctezuma y Diaz, 1992, 1993), sin afectar los niveles plasmáticos de testosterona (Mirmiran, 1981) ni de corticosterona basales (Ogawa et al, 1994). Asimismo describen un incremento en el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado (Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992).

De la misma manera, diversos estudios reportan que la administración de antidepressivos inhibidores de la recaptura de monoaminas, como zimelidina e imipramina, a ratas macho en la etapa neonatal produce anormalidades semejantes a las inducidas por el tratamiento con CLI (Hilakivi y Sinclair 1986; Hilakivi y Hilakivi, 1987; Hilakivi et al, 1987; Fernández-Pardal y Hilakivi, 1989). También se ha observado que el tratamiento neonatal con desipramina, otro inhibidor de la recaptura de monoamina, altera la ritmicidad circádica en la ingesta de agua (Rosenwasser y Hayes, 1994).

El análisis de la conducta sexual en nuestro modelo, se realizó en ratas de 4 meses de

edad. Los estudios realizados hasta ahora difieren en la edad en que se analiza la conducta sexual: 2 meses (Mirmiran, 1981) y 3 meses (Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992; Vogel et al, 1996). Existe poca información acerca de la actividad sexual de la rata macho en diferentes edades, así como un seguimiento de la conducta a lo largo de la vida del animal. Sin embargo, los resultados de estos trabajos nos permiten determinar cierta similitud en esta conducta aún cuando difiera la edad de inicio de la cópula.

Originalmente se administró una dosis de 15 mg/kg de clomipramina, dosis que comúnmente se ha utilizado para generar éste modelo animal de depresión (Maudhuit et al, 1995, 1996; Mirmiran et al, 1981; 1983, Neill et al, 1990; Feenstra et al, 1996; Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992; Velázquez-Moctezuma et al, 1993), en nuestro caso no fue la excepción. Sin embargo, en trabajos posteriores se han utilizado dosis mayores desde 20 hasta 60 mg/kg con la misma eficacia (Vogel, 1996; Kinney, 1997; Dwyer y Rosenwasser, 1998). Por otro lado, se ha observado que la vía de administración tampoco altera los datos encontrados, mientras que algunos autores realizan la administración de clomipramina vía subcutánea dos veces al día (Neill et al, 1990; Velázquez-Moctezuma et al, 1992, 1993; Mudhuit et al, 1995, 1996; Feenstra, 1996; Kinney et al, 1997), como inicialmente se comunicó (Mirmiran et al, 1981), otros la aplican vía intraperitoneal una sola vez al día (Vogel et al, 1996).

Las dosis de yohimbina, oxotremorina y 8-OH-DPAT que se utilizaron en este trabajo son las que comúnmente se emplean para el estudio de la conducta sexual y que se ha demostrado que la estimulan en la rata macho (Alhenius et al, 1981; Clark et al, 1984; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993, 1996).

Nuestros resultados muestran que las alteraciones de la conducta copulatoria en la rata macho adulta, estan asociadas con la exposición repetida de CLI en la etapa neonatal disminuyendo el aspecto motivacional (aumento en la latencia de monta, latencia de intromisión e intervalo interintromisión), lo mismo que el componente ejecutorio (aumento en el número de montas y disminución en la tasa de aciertos), el umbral eyaculatorio (incremento en la latencia de eyaculación), y el potencial copulatorio (disminución en la frecuencia de eyaculación). Además, afecta el porcentaje de sujetos que despliegan el patrón de montas, de

intromisión y de eyaculación. En este sentido, varios estudios han mostrado que la administración de CLI provoca alteraciones en la conducta sexual (Mirmiran et al, 1981, 1983; Neill et al, 1990; Velázquez-Moctezuma et al, 1992; Vogel 1996), sin embargo existen algunas discrepancias con los datos reportados por Vogel y cols (1996). En el presente estudio observamos un incremento en el número de montas y ninguna diferencia significativa en el número de intromisiones mientras que Vogel y cols (1996) encontraron disminuidos ambos parámetros. Existen también diferencias notables con los datos obtenidos de las ratas control en relación al tiempo en que despliegan la primera monta, así como en la frecuencia de eyaculación. Vogel y cols (1996) describen latencias de monta excesivamente largas (469 seg), y una frecuencia de eyaculación baja (1.2), en el presente trabajo el grupo control mostró latencias de monta de 15 seg y una frecuencia de eyaculación de 3 en el mismo periodo de tiempo (30 min). Estas discrepancias pueden deberse a la cepa utilizada, a las condiciones de alojamiento o al intervalo de tiempo entre las prueba de conducta sexual. En los experimentos realizados por Vogel y cols (1996) utilizaron ratas de la cepa Sprague-Dawley manteniendo un individuo por caja posterior al destete. En nuestro experimento utilizamos ratas de la cepa Wistar, alojando 6 animales por caja después del destete. Otro punto en el que se difiere es el tiempo que transcurre entre cada prueba, Vogel y cols (1996) analizan la conducta sexual con dos días de diferencia entre cada prueba, mientras que en nuestro caso hay un intervalo de tiempo de una semana. Nuestra experiencia nos ha mostrado que los animales aislados por periodos largos de tiempo muestran una conducta sexual disminuida y además, si son expuestos a pruebas de conducta sexual frecuentes también disminuye la conducta debido a que el animal no se recupera de la prueba anterior. Con nuestros resultados, sin embargo, se sustenta que las alteraciones de la conducta sexual son debidas al tratamiento neonatal con CLI y no a las condiciones de alojamiento o al intervalo de tiempo entre cada prueba, debido además a que el grupo control se conformó con machos sexualmente expertos.

Respecto al porcentaje de ratas que desplegaron montas e intromisiones estos son similares a los descritos por Mirmiran y cols (1981, 1983) y por Neill y cols (1990) quienes reportan que no hay diferencia alguna en el porcentaje de sujetos que despliegan cada patrón conductual. Asimismo el porcentaje de machos que eyaculan también es muy similar

(Mirmiran et al, 1983; Neill et al, 1990). Nuestros datos muestran que el 60% de los machos tratados neonatalmente con CLI despliegan el patrón de eyaculación, mientras que Mirmiran (1983) y Neill (1990) encontraron un 50 y 20% respectivamente. Es importante señalar que en estos trabajos el bajo porcentaje de machos que eyaculan también se observa en los machos control (50%) tratados neonatalmente con solución salina. En nuestro estudio este parámetro alcanzó el 100 %. Por lo tanto, el porcentaje de machos que despliegan el patrón eyaculatorio se reduce por el tratamiento neonatal con CLI proporcionalmente al porcentaje de machos que despliegan el patrón de eyaculación en el grupo control.

El análisis de los resultados nos permite sugerir que el tratamiento neonatal con CLI afecta tanto el aspecto motivacional como el ejecutorio de la conducta sexual masculina en la rata. La latencia de monta, que es el parámetro más sólido para valorar la motivación sexual (Pfaff, 1982; Shimura, et al, 1994), se incrementó notablemente en este modelo animal de depresión. El intervalo intercopulatorio se incrementó, reflejando que aún después del inicio de la cópula los animales tienen déficit motivacional.

Resultó claro que otros parámetros relacionados con el componente ejecutorio de la conducta también fueron afectados, particularmente el que se refiere a la capacidad eyaculatoria. El que el grupo de ratas tratadas neonatalmente con CLI presenten menor número de eyaculaciones durante el periodo de prueba sugiere que otros mecanismos pueden estar afectados y no solo el aspecto motivacional.

Una posible explicación a las deficiencias de la conducta sexual en las ratas tratadas neonatalmente con CLI fue propuesta por Mirmiran y cols en 1981. Ellos propusieron que la rata en la etapa neonatal presenta inmadurez en su sistema nervioso central, tanto estructural como funcionalmente, además de tener poca vigilia, poca actividad motora y un incremento del sueño MOR (Mirmiran, 1986). Por ello sugieren que estas alteraciones en la rata adulta tratada neonatalmente con CLI son provocados por la supresión del sueño MOR en la etapa neonatal inducida por este fármaco. Se ha sugerido que el sueño MOR juega un papel importante en el desarrollo normal del cerebro (Roffwarg et al, 1966; Mirmiran, 1981, 1986; Vogel et al, 1990). Sin embargo, en estudios posteriores también se ha propuesto que las anomalías conductuales no son debidas a la privación del sueño MOR (Velázquez-

Moctezuma et al, 1993), sino a los cambios a largo plazo en la función de los neurotransmisores, como es el caso de las aminas biogénicas, que parecen estar involucradas en ciertos aspectos de la maduración cerebral (Simpkins et al, 1977), así como su posible interacción con otros sistemas de neurotransmisión, como el sistema colinérgico (Butcher y Hodge, 1976). Estudios sobre el desarrollo del cerebro han revelado que las manipulaciones farmacológicas en un cerebro inmaduro pueden producir cambios permanentes en el contenido cerebral de neurotransmisores, como las monoaminas (Feenstra et al, 1997; Vijayakumar y Meti, 1999) o en la cantidad de sus receptores una vez que el cerebro está maduro (Whitaker, 1991; De Ceballos et al, 1985). Se ha sugerido que tales efectos se deben a que el cerebro no puede compensar los efectos causados por la droga (Vogel et al, 1990; Rodríguez y Broitman, 1983). En el presente estudio las ratas fueron tratadas farmacológicamente durante las primeras semanas de vida postnatal. La clomipramina y su metabolito desmetilado son potentes inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina, estos neurotransmisores aparecen en el desarrollo temprano y su mecanismo de recaptura es funcional alrededor del nacimiento, por lo que la clomipramina es farmacológicamente activa durante el tratamiento neonatal (Coyle y Axelrod, 1971; Karki et al, 1962; Ugrumov et al, 1989). Los resultados del presente trabajo confirman la vulnerabilidad del sistema nervioso central en el desarrollo temprano ante una exposición crónica de fármacos que afectan la neuroquímica de los neurotransmisores.

Lo anterior permite sugerir que el tratamiento con CLI en la etapa neonatal produce cambios de larga duración en la función de las aminas biogénicas y en su interacción con otros sistemas de neurotransmisión vinculados con la etiología de la depresión y la regulación de la conducta sexual. Es importante considerar el hecho de que la regulación de la conducta sexual masculina en la rata macho depende tanto de factores endocrinos como de componentes centrales (Sachs y Meisel, 1994). Su exploración a través de la activación o inhibición de los receptores en los sistemas de neurotransmisión vinculados a los dos fenómenos, los sistemas noradrenérgico, colinérgico y serotoninérgico en los animales tratados neonatalmente con CLI, así como la determinación de los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona, constituyen un hallazgo interesante, dado que son las primeras evidencias experimentales de

ello.

En esta dirección, diversos trabajos reportan que la administración de yohimbina vía intraperitoneal o intracerebroventricular facilita la conducta sexual a través de estimular la motivación sexual (Bitran, 1987; Sala et al, 1990; Koskinen et al, 1991; Smith y Davidson, 1990). De la misma manera, la yohimbina incrementa el porcentaje de machos que copulan cuando son castrados o son sexualmente inactivos (Clark et al, 1984, 1985). En este sentido, se ha determinado que la administración de yohimbina tiene un efecto estimulador sobre la conducta sexual en los seres humanos y en las ratas a través del bloqueo selectivo de los receptores α -2 presinápticos (Carey y Jhonson, 1996; Dewire et al, 1995; Koskinen et al, 1990) al provocar un incremento en la liberación de noradrenalina debido a su acción sobre los autoreceptores presinápticos (Clark, 1985; Tallentire et al, 1996). Otros estudios sugieren que los adrenoceptores α -2 están involucrados específicamente en la regulación de la motivación sexual (Clark et al, 1984, 1985; Kwong et al, 1986). La interpretación de nuestros resultados sobre el bloqueo selectivo de los receptores α -2 presinápticos con yohimbina, mostró un efecto facilitador del inicio y mantenimiento de la conducta sexual en el grupo control al disminuir la latencia de monta, el número de montas, el número de intromisiones, latencia de eyaculación, así como incrementar la frecuencia de eyaculación. Este efecto no se observó en el grupo tratado neonatalmente con CLI, solo se indujo una disminución significativa en la latencia de eyaculación semejante al grupo control tratado con solución salina. Asimismo, la yohimbina no incrementó el porcentaje de machos que despliegan el patrón de monta, de intromisión y de eyaculación en el grupo CLI. Estos datos indican que no ejerce su efecto estimulador sobre la conducta sexual, lo cual sugiere que el sistema noradrenérgico está alterado por la administración neonatal de CLI al mantenerse las deficiencias de la conducta sexual previamente descritas.

Se ha descrito que la estimulación del sistema colinérgico, principalmente a través de los receptores muscarínicos, facilita la conducta sexual en la rata macho (Ahlenius y Larsson, 1985; Hull et al, 1988; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993). La OXO induce una disminución en el umbral eyaculatorio (disminución en el número de montas e intromisiones que preceden a la eyaculación y acortamiento en la latencia de eyaculación), así como un

aumento en el potencial copulatorio dado que incrementa la frecuencia de eyaculación (Hull et al, 1988; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993). Este efecto facilitador en la conducta sexual se observó en el grupo control con la administración de OXO al disminuir la latencia de eyaculación (Hull et al, 1988; Retana-Márquez et al, 1993). Por otro lado, en el grupo CLI, el efecto de la OXO solamente disminuyó el número de intromisiones. Cabe señalar que en las pruebas de conducta sexual previas a la administración de los fármacos no se encontraron cambios en el número de intromisiones respecto al control, por lo tanto, el efecto que se observa en los animales CLI es un parámetro que no se afecta por el tratamiento neonatal con CLI. La administración de OXO falla totalmente para estimular la conducta sexual, así como incrementar el porcentaje de machos que despliegan el patrón conductual en los animales tratados neonatalmente con CLI, esto sugiere que el sistema colinérgico y específicamente el sistema muscarínico, han sido modificados permanentemente.

El sistema serotoninérgico, por otro lado, tiene un papel inhibitorio sobre la conducta sexual masculina (Bitran y Hull, 1987). La infusión directa de serotonina en el área preóptica cerebral inhibe la conducta sexual (Verma et al, 1989). Sin embargo, cuando se administra el 8-OH-DPAT, agonista selectivo del receptor 5-HT_{1A} por vía intraperitoneal o localmente en el APOm se observa una facilitación de esta conducta porque reduce el número de montas e intromisiones previas a la eyaculación y disminuye la latencia de eyaculación y el intervalo posteyaculatorio, además de incrementar la frecuencia de eyaculación (Ahlenius et al, 1981; Fernández-Guasti et al, 1992). Esto ha sugerido considerar que la facilitación de la conducta sexual es resultado de la disminución en la actividad serotoninérgica (Ahlenius et al, 1981; Lorrain et al, 1998). En el presente trabajo, la administración del 8-OH-DPAT a las ratas tratadas neonatalmente con CLI ejerció su efecto estimulador similar al observado en el grupo control al disminuir la latencia de intromisión, latencia de eyaculación, el número de montas, el número de intromisiones, así como incrementar la frecuencia de eyaculación. De manera similar, solo la administración de 8-OH-DPAT incrementó el porcentaje de machos que desplegaron los patrones conductuales en las tres series eyaculatorias. Estos resultados sugieren que el sistema serotoninérgico, especialmente el de los receptores 5-HT_{1A}, no fue afectado por la administración neonatal con CLI.

Las diferencias en los valores de los parámetros copulatorios entre las ratas del grupo control y las ratas tratadas neonatalmente con clomipramina sugieren que el componente motivacional de la conducta sexual está disminuido (expresado en el incremento de la latencia de monta) y el componente de ejecución (expresado en el incremento de la latencia de intromisión y menor porcentaje de animales que eyaculan entre otros), aún con la administración de yohimbina y OXO. Sin embargo la administración de 8-OH-DPAT facilitó el componente de ejecución al incrementar la proporción de animales que inician la cópula, mostrar una tendencia hacia la disminución de la latencia de monta y reducir claramente la latencia de intromisión. Sin embargo, el efecto más notable de esta droga es sobre el número de montas e intromisiones para alcanzar la eyaculación, así como la latencia de eyaculación, además de incrementar la frecuencia de eyaculación

Considerando lo anterior se sugiere que la administración de CLI administrada neonatalmente modifica el funcionamiento de los sistemas colinérgico y noradrenérgico, dejando intacto al sistema serotoninérgico. Esta es la primera evidencia en relación a la funcionalidad de estos tres sistemas de neurotransmisión in vivo en este modelo. Por otra parte, se intentó correlacionar las alteraciones de la conducta sexual con los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona. Los resultados de los animales tratados neonatalmente con CLI mostraron que no están asociados, ya que la concentración plasmática de ambas hormonas fue similar entre los animales CLI y control.

Es posible que la alteración en los sistemas de neurotransmisión modifique la regulación que ejercen estructuras como el APOm, reconocida como el área cerebral de importancia crítica en la regulación de la conducta sexual masculina. Esta área recibe aferencias de los núcleos colinérgicos del puente y noradrenérgicos del locus coeruleus (Chiba y Murata, 1985; Kass, 1986; Bitran y Hull, 1987; Hull et al, 1988a; Simerly y Swanson, 1988; Houdouin, 1991; Kandel y Schwartz, 1995; Feldman et al, 1997). Se ha postulado que las neuronas del APOm están involucradas en los aspectos tanto motivacionales como en los de ejecución de la conducta sexual (Ginton y Merari, 1977). Se ha demostrado que lesiones del APOm suprimen la conducta sexual en varias especies, sin interferir con la conducta motora, mientras que la implantación de algunos esteroides gonadales, como testosterona, estradiol y

dihidrotestosterona, en esta misma región restaura la conducta copulatoria en machos castrados (Davidson, 1966; Davis y Barfield, 1979). Además, la estimulación eléctrica del APOm en ratas macho facilita la eyaculación (Malsbury, 1971) o induce una conducta exagerada al incrementar el número de eyaculaciones en 30 minutos (de 12 a 17 eyaculaciones; Merari y Ginton, 1975). Asimismo, en los machos con lesión del APOm, la castración suprime la conducta copulatoria y el tratamiento con testosterona no restaura dicha conducta en contraste con los machos castrados y sin lesión de esta región cerebral en los cuales la testosterona restaura la conducta sexual. En este sentido, Ginton y Merari (1977) describen que ratas macho con lesión en el APOm no presentan cambios en los niveles plasmáticos de testosterona (Ginton y Merari, 1977; Lupo et al, 1983), ni en los mecanismos de erección (Stefanick y Davidson, 1987).

Por otra parte, la infusión de fármacos agonistas y antagonistas de diferentes neurotransmisores que participan en la regulación de la conducta sexual masculina han mostrado que modifican la conducta sexual masculina (Ginton y Merari, 1977; Sachs y Meisel, 1994). Así, la administración de OXO y 8-OH-DPAT directamente en el APOm facilitan casi todos los parámetros de la conducta sexual masculina (Fernández-Guasti et al, 1992; Hull et al, 1988). Un efecto inhibitorio de ésta conducta se observa cuando se administran antagonistas colinérgicos o la misma serotonina (Verma et al, 1989; Hull et al, 1988).

Varias líneas de investigación muestran que la conducta sexual masculina se regula centralmente mediante la interacción de diversos sistemas de neurotransmisión (Gorea y Adrien, 1988; Piercey et al, 1994). Resultados previos sugieren una interacción recíproca entre los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico sobre la conducta sexual masculina (Fernández-Guasti et al, 1986). Se sabe que el núcleo de rafe dorsal tiene una influencia inhibitoria sobre el locus coeruleus (Fernández-Guasti et al, 1991), mientras que este último ejerce una influencia moduladora. Sin embargo, no hay estudios que evalúen las interacciones entre los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico con el sistema colinérgico en la conducta de la rata macho.

Una pregunta interesante sería por qué el sistema colinérgico se afecta al administrar un fármaco bloqueador de la recaptura de las monoaminas. Una posible explicación es que ningún sistema de neurotransmisión funciona aislado de los demás, es decir, una señal anormal

durante el desarrollo produciría alteraciones generalizadas en los sistemas de neurotransmisión (Whitaker, 1991), por ello, la participación de otros sistemas de neurotransmisión, no involucrados directamente con los efectos farmacológicos de la CLI, no pueden ser ignorados.

El presente trabajo es el primero en tratar de dilucidar una posible correlación del mecanismo neuronal central y la alteración de una conducta en ratas tratadas con CLI a través de manipulaciones farmacológicas. Poco se sabe acerca de los mecanismos involucrados en las alteraciones de la conducta sexual masculina en las ratas CLI, así como de las vías neurales que participan en la regulación de este patrón conductual y que podrían estar vinculadas con las proyecciones de áreas cerebrales involucradas en la depresión como el núcleo del rafe dorsal serotoninérgico, el locus coeruleus noradrenérgico o las regiones colinérgicas pontinas. Posiblemente es en la interacción de estos núcleos donde actúa la CLI al inhibir la recaptura de las monoaminas. Lo que sugiere que las alteraciones observadas en la conducta sexual en las ratas CLI se deben a cambios permanentes en la neurotransmisión colinérgica o noradrenérgica y/o en la cantidad y calidad de sus receptores por la administración crónica de la clomipramina en la etapa neonatal. Recientes trabajos describen que la administración crónica de CLI en la etapa neonatal disminuye los niveles de noradrenalina y serotonina en el hipotálamo, corteza prefrontal, hipocampo y septum (Feenstra et al, 1997; Vijayakumar y Meti, 1999), además de inducir una hipersensibilidad en los receptores muscarínicos (Prathiba et al, 1996). Los resultados descritos muestran también una alteración en los niveles de serotonina. Una explicación alternativa es que este neurotransmisor participa inhibiendo la conducta sexual (Bitran y Hull, 1987; Meisel y Sachs, 1994), es decir al incrementar la actividad serotoninérgica la conducta sexual se inhibe (Ahlenius et al, 1980; Verma et al, 1989), mientras que la disminución de los niveles de serotonina o la degeneración de las neuronas serotoninérgicas con la neurotóxina 5,7-dihidroxitriptamina facilitan diferentes aspectos de la conducta sexual (Larsson, 1978; McIntosh, 1984^a, Fernández-Guasti et al, 1992). Esto permite proponer que los bajos niveles de serotonina están facilitando la conducta, pero no así los bajos niveles de noradrenalina, cuyo incremento juega un papel estimulador en la conducta sexual.

Finalmente sugerimos que la inhibición de la conducta sexual en este modelo animal de depresión es debida a una alteración en la interacción entre los sistemas de neurotransmisión

colinérgico y/o noradrenérgico e inclusive, otros sistemas de neurotransmisión no explorados, en las áreas cerebrales vinculadas con la regulación de la conducta sexual, como el APOm.

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE CLI EN LA PRUEBA DE PORSOLT

Nuestros resultados corroboran los descritos en relación a que el tratamiento neonatal con CLI incrementa el tiempo de inmovilidad en la prueba de Porsolt o nado forzado tanto en la prueba de 15 como en la de 5 minutos (Velázquez, 1992). Hallazgos similares se han obtenido en ratas tratadas neonatalmente con otros bloqueadores de la recaptura de monoaminas (Hilakivi y Hilakivi, 1987; Fernandez-Pardal y Hilakivi, 1989). En este sentido, las investigaciones realizadas con ratas en condiciones estresantes también han mostrado incrementos en el tiempo de inmovilidad (Weiss et al, 1981). De la misma manera, un ratón sumiso presenta mayor tiempo de inmovilidad que el ratón dominante. Estos datos sustentan la hipótesis de que el incremento en el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado refleja un estado conductual depresivo. Es así que el tiempo de inmovilidad permite monitorear el estado de ánimo del animal. En la depresión humana uno de los síntomas más conspicuos es el bajo estado de ánimo, por lo que la prueba puede usarse para la determinación del estado conductual de la rata y para la validación del modelo, además de ser sensible específicamente a fármacos antidepresivos (Porsolt et al, 1978).

Por otro lado, diversos estudios consideran la participación del sistema colinérgico, noradrenérgico y serotoninérgico durante la postura de inmovilidad en la prueba de nado forzado, a través de tratamientos farmacológicos que incrementan o disminuyen el tiempo de inmovilidad. Las drogas colinomiméticas prolongan el tiempo de inmovilidad (Mrowiec et al, 1991), mientras que la administración aguda o crónica del agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT, lo reduce (Cervo et al, 1988), por lo que se ha considerado que este fármaco podría tener propiedades antidepresivas en el ser humano (Golberg y Finnety, 1979; Schwizer et al, 1986a; Amsterdam et al, 1987) e inclusive se ha sugerido además, que este compuesto puede constituir un antidepresivo de acción rápida (Kennet y Curzon, 1987b). El bloqueo de los receptores adrenérgicos α -2 reduce el tiempo de inmovilidad. En este contexto, es interesante que la administración de yohimbina disminuya el tiempo de inmovilidad, sin embargo, este

dato aislado no es concluyente, por lo que son necesarias más investigaciones para considerarla como un antidepresivo.

De acuerdo a lo anterior, los sistemas de neurotransmisión explorados en la conducta sexual podrían también estar participando en el incremento en el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Poco se sabe de las regiones que median esta conducta, por lo que la exploración de la actividad de cada uno de los sistemas de neurotransmisión en la prueba de nado forzado sería plausible a futuro.

EFFECTO EN LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE CORTICOSTERONA Y TESTOSTERONA.

El tratamiento neonatal con CLI no modificó los niveles plasmáticos de corticosterona ni de testosterona en las ratas adultas.

Los pacientes con depresión endógena frecuentemente presentan altos niveles de cortisol en plasma (Gold, 1988; Murphy, 1991; Young 1991). Esta disfunción en el eje HHA puede ser causado por una deficiente inhibición de la retroalimentación negativa llevando a una hipersecreción de cortisol (Rubin 1987; Roy, 1987). La actividad del eje HHA refleja una alteración en la variación diurna en los pacientes depresivos, es decir secretan más cortisol durante la noche cuando la actividad de la glándula adrenal es quiecente en sujetos normales (Gold et al, 1988a, 1988b) por lo que la variación diurna en la secreción de cortisol aparece aplanada debido al incremento en la actividad en la tarde. Por otro lado, el tratamiento neonatal con clomipramina en ratas, ha sido propuesto como un novedoso modelo animal de depresión, porque puede replicar en gran medida varios de los componentes del cuadro clínico presentes en seres humanos (Vogel, 1982; Velázquez, 1992, 1993). Respecto a la capacidad del modelo animal de presentar la validez de apariencia, las evidencias existentes acerca de las anormalidades que se presentan con el tratamiento neonatal con clomipramina en la rata macho semejan algunos de los signos de la depresión que pueden ser modelados en animales de laboratorio para el estudio de la etiología de la depresión (Mirmiran, 1981; Neill, 1990; Vogel, 1982, 1990, 1996 ; Velázquez-Moctezuma y Díaz-Ruíz 1993) por lo que presenta en gran medida la validez de apariencia. En este contexto, la determinación plasmática de

corticosterona y testosterona en el modelo de depresión podría permitir explicar mejor el mecanismo de las alteraciones de la depresión, entre ellas las alteraciones neuroendocrinas. Sin embargo, los resultados obtenidos parecen no validar el modelo al no mostrar diferencias significativas tanto en los niveles de corticosterona como de testosterona. Por otra parte, en animales de hábitos nocturnos, como la rata, se observa un patrón invertido en los niveles plasmáticos de corticosteroides, con un pico de corticosterona al inicio de la fase, oscura antes del periodo de actividad nocturna, mientras que los valores más bajos en los niveles plasmáticos de corticosteroides se presentan al inicio de la fase luminosa (Critchlow et al, 1963). En relación a este punto, es importante resaltar que la determinación de corticosterona se realizó en la fase de oscuridad específicamente en el primer tercio cuando los niveles plasmáticos de corticosterona están altos en condiciones normales. Acorde con esto, para la validación del modelo animal de depresión propuesto por Vogel y cols (1982) será necesario determinar la actividad de la glándula adrenal en diferentes horas del día para observar si la curva circádica se mantiene aplanada, indicando posiblemente una alteración en el ritmo circádico del cortisol, principalmente en la tarde. De la misma manera, el interés a futuro será ver la actividad del eje HHA en respuesta al estrés, debido a que cuando los animales son sometidos a algún estresor se incrementan los niveles de corticosterona, la expresión final del funcionamiento del eje HHA (Munck, 1984; Yates, 1980). Además de entender el papel que desempeñan el sistema colinérgico y noradrenérgico en la regulación del eje HHA ante el estrés en los animales tratados neonatalmente con CLI.

Por otra parte, los niveles de testosterona presentes en los animales tratados neonatalmente con CLI tampoco se modificaron. Existen datos contradictorios en la determinación de los niveles plasmáticos de testosterona en los pacientes deprimidos. Algunos autores sugieren que las alteraciones de la conducta sexual están relacionadas con los niveles plasmáticos de testosterona (Únden et al, 1988; Steiger et al, 1991). En este sentido, los niveles de testosterona aparentemente no participan en las alteraciones de la conducta sexual en los animales tratados neonatalmente con CLI.

CONCLUSIONES

- El tratamiento neonatal con CLI en las ratas macho deteriora su conducta sexual en la edad adulta, tanto en su componente motivacional como en los componentes consumatorios.
- El tratamiento neonatal con CLI incrementa el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado frozado que refleja el estado anímico del animal.
- La administración de yohimbina, oxotremorina y 8-HO-DPAT estimulan la conducta sexual en ratas controles adultas.
- La administración de yohimbina y oxotremorina en ratas tratadas neonatalmente con CLI induce un ligero restablecimiento en la conducta sexual, mientras que la administración 8-OH-DPAT la restablece totalmente.
- Las ratas tratadas neonatalmente con CLI tienen alterados los sistemas colinérgico y noradrenérgico, los cuales participan en la regulación de la conducta sexual masculina. El sistema serotoninérgico de las ratas tratadas con CLI permanece intacto dado que al administrar el agonista 8-OH-DPAT, la estimulación de la conducta sexual fue muy similar a la de los animales control con el mismo fármaco.
- Los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona no se modificaron con el tratamiento neonatal de CLI lo que sugiere que la actividad basal de los ejes HHA y HHG parece no estar alterada.

REFERENCIAS

- Adem A. (1997). Muscarinic receptor subtype selective toxins. *Life Sci.* 60: 1069-1076.
- Ahlenius S., Eriksson H., Larsson K., Modigh K., Sodersten P. (1971). Mating behavior in the male rat treated with p-chlorophenyl-alanine-methyl-ester alone and in combination with pargyline. *Psychopharmacol.* 20: 383-388.
- Ahlenius S., Larsson K. (1984). Apomorphine and haloperidol-induced effects on male rat sexual behavior: No evidence for actions due to stimulation of central dopamine autoreceptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 21:463-466.
- Ahlenius S., Larsson K., Svensson L. (1980). Further evidence for an inhibitory role of central 5-HT in male rat sexual behavior. *Psychopharmacol. (Berlin)* 68:217.
- Ahlenius S., Larsson K., Svensson L., Hjorth S., Carlsson A., Linberg P., Wikstrom H., Sánchez D., Arvidsson L.E., Hacksell U., Nilsson J.G.L. (1981). Effects of a new type of 5-HT receptor agonist on male rat sexual behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15:785-792.
- Ahlenius S., Larsson K. (1984). Lisuride, LY-141865 and 8-OH-DPAT facilitate male rat sexual behavior via a non-dopaminergic mechanism. *Psychopharmacol. (Berlin)* 83:330-334.
- Ahlenius S., Larsson K. (1987). Evidence for a unique pharmacological profile of 8-OH-DPAT by evaluation of its effects on male rat sexual behavior. In: C.T. Dourish, S. Ahlenius, P. Hutson (Eds). *Brain 5-HT_{1A} receptor: Behavioral and Neurochemical Pharmacology*, Ellis Horwood Ltd., Chichester.
- Akiskal H.S. (1980). External validating criteria for psychiatric diagnosis: their Application in affective disorders. *J. Clin. Psychiatry* 41:6-15.
- American Psychiatric Association, Committee on Nomenclature and Statistics: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder.* (1980). Third edition. Washington, D.C., American Psychiatric Association.
- Amsterdam J.D., Berwisch N., Potter L., Rickels K. (1987). Open trial of gepirone in the treatment of major depressive disorder. *Curr. Ther. Res.* 41:185-193.

- Anderson J. (1982). The effects of steroid hormones on gene transcription. In: Goldberger, R.F. , Yamamoto, K R. (Eds). Biological regulation and development. Vol 3B. Hormone action. Plenum Press, New York. pp.169-212.
- Aneshensel C.S., Stone J.D. (1982). Stress and depression: a test of the buffering model of social support. Arch. Gen. Psychiatr. 39:1392-1396.
- Baghdoyan H.A. (1997). Location and quantification of muscarinic receptor subtype in rat pons: implications for REM sleep generation. Amer. J. Physiol.-Regul. Integr. 42:896-904.
- Beach F.A. (1956). Characteristics of masculine sex drive. En: Jones M.R. (Ed). The Nebraska symposium on motivation. Lincoln, N.E. University of Nebraska Press. pp. 1-32.
- Beyer C. (1979). Endocrine control of sexual behavior. Raven Press, Nueva York.
- Beyer C., Larsson K., Pérez-Palacios G., Morali G. (1973). Androgen structure and male sexual Behavior in the castrated rat. Horm. Behav. 4:99-108.
- Bitran D., Hull E. (1987). Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. Neurosci. Biobehav. Rev. 11:363-389.
- Bonson K., Honhnson R., Fiorella D., Rabin Rwinter J. (1994). Serotonergic control of androgen-induced dominance. Pharmacol. Biochem. Behav. 49:313-322.
- Bowers M.B., Goodman E., Sim O.M. (1964). Some behavioral changes in man following anticholinesterase administration. J. Nerv. Ment. Dis. 138:383-389.
- Bowes M.P., Peters R.H., Kernan W.J, Jr. Hopper D.L.(1992). Effects of yohimbine and idaxozan on motor behavior in male rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 41:4, 707-713.
- Brennan M. J. W., Cantrill R.C. (1979). Delta-aminolaevulinic acid is a potent agonist for GABA autoreceptors. Nature 280:514.
- Brown G.L., Linnoila M. CSF serotonin metabolite (5-HIAA) studies in depression, impulsivity and violence. J. Clin. Psychiatry 51(Suppl. 4):31-41.
- Brown S.L., Steinberg R.L., van Praag H.M. (1994). The pathogenesis of depression: Reconsideration of neurotransmitter data. In: Handbook of depression and anxiety. J.A. Den Boer and J. M. Ad Sitsen (Eds) pp. 317-347. Marcel Dekker, New York.

- Bruinink A., Lichtensteiger W., Schlumpf M. (1983). Ontogeny of diurnal rhythms of central dopamine, serotonin and spirodecane binding sites and of motor activity in the rat. *Life Sci.* 33:31-38.
- Butcher L.L., Hodge G.K. (1976). Postnatal development of acetylcholinesterase in the caudate-putamen nucleus and substantia nigra of rats. *Brain Res.* 106:223-240.
- Cairncross K.D., Cox B., Forster C., Wren A.F. (1979). Olfactory projection systems, drugs and behavior: A review. *Psychoneuroendocrinol.* 4:253-272.
- Caldecott, H.S. Morgan D.G., Deleon J.F., Overstreet D.H., Janowsky D. (1991). Clinical and biochemical aspects of depressive disorders II: transmitter-receptor theories. *Synapse* 9:251-301.
- Calogero A.E., Bagdy G., Moncada M.L., Dagata R. (1993). Effect of selective serotonin agonists on basal, corticotropin-releasing hormone-induced and vasopressin-induced ACTH release in vitro from rat pituitary cells. *J. Endocrinol.* 136:381-387.
- Calogero A.E., Galluci W.T., Gold P.W., Chrousos G.P. (1988). Multiple feedback regulatory loops upon rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion. *J. Clin. Invest.* 82:767-774.
- Calogero A.E., Kamilaris T.C., Gomez M.T., Johnson E.O., Tartaglia M.E., Gold P.W., Chrousos G.P. (1989). The muscarinic cholinergic agonist arecoline stimulates the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis through a centrally-mediated corticotropin-releasing hormone-dependent mechanism. *Endocrinology* 125:244-253.
- Carey M.P., Johnson B.T. (1996). Effectiveness of yohimbine in the treatment of erectile disorder: Four meta-analytic integrations. *Arch. Sex. Behav.* 25:341-369.
- Carroll B.J., Greden J.F., Rubin R.T., Haskett R., Feinberg M., Scheingart D. (1978). Neurotransmitter mechanism of neuroendocrine disturbance in depression. *Acta Endocrinol.* 220:40.
- Carroll B.J., Martin F.I., Daves B. (1968). Resistance to suppression by dexamethasone of plasma 11-OHCS levels in severe depressive illness. *Br. Med. J.* 3:285-287.

- Cervo L., Grignaschi G., Samnin R.(1988). 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, a selective serotonin_{1A} receptor agonist, reduces the immobility of rats in the forced swimming test by action on the nucleus raphe dorsalis. *Eur. J. Pharmacol.* 158:53-59.
- Cespuglio, R., Gomez M., Faradji H., Jouvet, M. (1982). Alterations in the sleep-waking cycle induced by cooling of the locus coeruleus area. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 54:570-578.
- Charney D.S., Krystal J.H., Southwick S.M., Delgado P.L. (1994). The role of noradrenergic function in human anxiety and depression. In: *Handbook of depression and anxiety*. J.A. den Boer and J.M. Ad Sitsen (Eds.). Marcel Dekker, New York. pp. 473-496
- Chiba T., Murata Y. (1985). Afferents and efferent connections of the medial preoptic area in the rat: A WGA-HRP study. *Brain Res. Bull.* 14:261-272.
- Christensen L.W., Conniglio L.P., Paup D.C., Clemns L.C. (1973). Sexual behavior of male golden hamsters receiving diverse androgen treatments. *Horm. Behav.* 4:223-229.
- Clark J.T., Smith E.R. (1987). Effects of apomorphine on sexual behavior in young and middle-aged rats. *Neurobiol. Aging* 8(2):153-157.
- Clark J.T., Smith E.R., Davidson J.M. (1984). Enhancement of sexual motivation in male rats by yohimbine. *Science* 225: 847-849.
- Clark J.T., Smith R.E., Davidson J.M. (1985). Testosterone is not required for the enhancement of sexual motivation by yohimbine. *Physiol. Behav.* 35:517-521.
- Coble P., Foster F. G. Kupfer D.J. (1976). Electroencephalographic sleep diagnosis of primary depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 33:1124-1127.
- Coccaro E.F.(1992). Impulsive aggression and central serotonergic system function in humans: An example of a dimensional brain-behavior relationship. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 7:3-12.
- Costa E., Garattini S., Valzelli L. (1960). Interaction between reserpine chlorpromazine and imipramine. *Experientia* 16:461-463.
- Coyle J.T., Axelrod J. (1971). Development of the uptake and storage of L-[H]norepinephrine in the rat brain. *J. Neurochem.* 18:2061-2075.

- Davidson J.M. (1966). Activation of the male rats sexual behavior by intracerebral implatation of androgen. *Endocrinology* 79:783-794.
- Davis P.G., Barfield R.J. (1979). Activation of masculine sexual behavior by intracranial estradiol benzoato implants inmale rats. *Neuroendocrinology* 28:217-227.
- De Kloet E.R., Reul J.M. (1987). Feedback action and tonic influence of corticosteroids on brain function: A concept arising from heterogeneity of brain receptor systems. *Psychoneuroendocrinol.* 12:83-105.
- De Paolo Y., McCann S., Negro-Villar A. (1982). A sex difference in the activation on hyphotalamic catecholaminergic and luteinizing hormone realising hormone peptidergic neurons after acute castration. *Endocrinology* 110:531-539.
- Dewire D.M., Todd E., Meyers S.P.(1995). Patient satisfaction with current impotence therapy. *Wis. Med. J.* 94:10.
- Dilsaver S.C. (1986). Pharmacologic induction of cholinergic system up-regulation and supersensitivity in affective dosorders research. *J. Clin. Psychopharmacol.* 6:65-74.
- Doerr P., Berger M. (1983). Physostigmine-induced escape from dexamethasone supression in normal adults. *Biol. Psyquiatry* 18:261-268.
- Dorworthy T.R., Overmeir J.B.(1977). On “learned helpness”: the therapeutic effects of electroconvulsive shock. *Physiol. Behav.* 4: 355-358.
- Dourish C.T., Hutson P.H., Curzon G.(1985). 8-OH-DPAT-induced hypherphagia: its neural basic and possible therapeutic relevance. *Psychopharmacol.* 86:197-204.
- Dwyer S.M., Rosenwasser A.M. (1998). Neonatal clomipramine treatment, alcohol intake and circadian rhytms in rats. *Psychopharmacol.* 138:176-183.
- Einon D.F., Morgan M.J., Sahakian B.J. (1975). The development of intersession habituation and emergence in socially reared and isolated rats. *Dev. Psychobiol.* 8:553-559.
- Feenstra M.G., Van Galen H., Te Riele J.M., Botterblom M.H., Mirmiran M. (1996). Decreased hypothalamic serotonin levels in adults rats treated neonatally with clomipramine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 55:647-652.

- Feldman, S.R; Meyer, S.J and Quenzer L.F. (1997) Principles of Neuropsychopharmacology. Sinaver Associates, Inc., Publishers Sunderland, Massachusetts.
- Fernandez-Guasti A., Escalante A. (1991). Role of presynaptic serotonergic receptors on the mechanism of action of 5-HT1A and 5-HT1B agonists on masculine sexual behavior: Physiological and pharmacological implications. *J. Neural Transm. Gen. Sect.* 85:95-107.
- Fernández-Guasti A., Escalante A.L., Ahlenius S., Hillegart V., Larsson K. (1992). Stimulation of 5-HT1A y 5-HT1B receptors in brain regions and its effects on male rat sexual behavior. *Eur. J. Pharmacol.* 210:121-129.
- Fernández-Guasti A., Escalante A.L, Agmo A. (1989). Inhibitory action of various 5-HT1B receptor agonist on rat masculine sexual behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 34:811-816.
- Fernández-Guasti A., Hansen S., Archer T., Jonsson G. (1986). Noradrenaline-serotonin interactions in the control of sexual behavior in the male rat: DSP4-induced noradrenaline depletion antagonizes the facilitatory effect of serotonin agonist, 5-MeODMT and lisuride. *Brain Res.* 377:112-118.
- Fernández-Guasti A., Rodríguez Manzo G. (1997). 8-OH-DPAT and male rat sexual behavior: Partial blockade by noradrenergic lesion and sexual exhaustion. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56:111-116.
- Fernández-Guasti A., Roldán-Roldán G., Saldívar A. (1989). Reduction in anxiety after ejaculation in the rat. *Behav. Brain Res.* 32:23-39.
- Fernández-Pardal J., Hilakivi L.A. (1989). Effects of low alcohol dose on behavioral despair in rats neonatally treated with antidepressants drugs. *Alcohol* 6:93-95.
- Fisher A.E. (1956). Maternal and sexual behavior induced by intracranial chemical stimulation. *Science* 124:228-229.
- Foote S.L, Aston-Jones G, Bloom F.E. (1980). Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:3033-3037.

- Fornal C., Radulovacki M. (1983). Effect by fenfluramine on REM sleep in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 225:667-674.
- Garber J., Miller W.R., Serman S.F.(1979). Learned helplessness, stress and depressive disorders. En: Depue RA (Ed). *The psychobiology of the depressive disorders: implications for the effects of stress.* Academic Press, New York. pp 335-363.
- Garzon J., Del Río, J. (1981). Hyperactivity induced in rats by long-term isolation: Further studies on a new animal model for detection of antidepressant. *Eur. J. Pharmacol.* 74:287-284.
- Garzon J., Fuentes J.A., Del Río J.(1979). Antidepressants selectively antagonize the hyperactivity induced in rats by long-term isolated. *Eur. J. Pharmacol.* 59:293-296.
- Geraciotti T.D., Loosen P.T., Ekhtor N.N., Schmidt D., Chambliss B., Baker D.G., Kasckow J.W., Richtand N.M., Keck P.E., Ebert M.H. (1997). Uncoupling of serotonergic and noradrenergic systems in depression: Preliminary evidence from continuous cerebrospinal fluid sampling. *Depress Anxiety.* 6(3):89-94.
- Gibbons J.L., McHugh P.R. (1962). Plasma cortisol in depressive illness. *Psychiatry Res.* 1:162-167.
- Ginton A., Merari A.(1977). Long range effects of MPOA lesion on mating behavior in the male rat. *Brain Res.* 120:158-163.
- Gjerris A., Werdelin L., Rafaelsen O.J., Alling C., Christensen N.J.(1987). CSF dopamine increased in depression: CSF dopamine, noradrenaline and their metabolites in depressed patients and in controls. *J. Affect. Disord.* 13: 279-86.
- Goldberg A.L., Finnerty R.J. (1979). The comparative efficacy of buspirone and diazepam in the treatment of anxiety. *Am. J. Psychiat.* 136:1184-1187.
- Goodwin F.K., Wirz-Justice A., Wehr T.A. (1982). Evidence that pathophysiology of depression and the mechanisms of action of antidepressant drugs both involve alterations in circadian rhythms In: Costa E. (Eds). *Typical and atypical antidepressants: Clinical practice.* Raven Press, New York. pp 1-11.

- Gold P.W., Chrousos G., Kellner C. (1984). Psychiatric implications of basic and clinical studies with corticotropin-releasing factor. *Am. J. Psychiatry* 141:619-627.
- Gold P.W., Goodwin F.K., Chrousos G.P. (1988). Clinical and biochemical manifestations of depression: relationship to the neurobiology of stress, part 1. *N. Engl. J. Med.* 319:348-353.
- Gold P.W., Loriaux D.L., Roy A. (1986). Response to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease: Pathophysiologic and diagnostic implications. *N. Engl. J. Med.* 314: 1329-1335.
- Gorea E., Adrien J. (1988). Serotonin regulation of noradrenergic coeruleus neurons: Electrophysiological evidence for involvement of receptor 5-HT₂. *Eur. J. Pharmacol.* 154:285-291.
- Göthert M., Huth H. (1980). Alpha adrenoceptor-mediated modulation of 5-hydroxytryptamine release from rat brain cortex slices. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 313:21-26.
- Haleem D.J. (1992). Repeated corticosterone treatment attenuates behavioral and neuroendocrine responses to 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin in rat. *Life Sci.* 51:225-230.
- Hamilton M., White J.M. (1959). Clinical syndromes in depressive states. *J. Ment. Sci.* 105: 985-988.
- Hammer R., Berrie C., Birdsall N., Burgen A., Hulme E. (1980). Pirenzepine distinguishes between different subclasses of muscarinic receptor. *Nature* 283:90-92.
- Hammer R., Giachetti A. (1982). Muscarinic receptor subtypes: M1 and M2 biochemical and functional characterization. *Life Sci.* 31:2991-2998.
- Hanin I., Usdin E. (1977). *Animals models in psychiatry and neurology*. Pergamon Press, Oxford.
- Heimer L., Larsson K. (1966/1967). Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic-anterior hypothalamic continuum. *Brain Res.* 3:248-263.

- Higley J.D., Suomi S.J., Scanlon J.M., McKinney W.T. (1982). Plasma cortisol as a predictor of individual depressive behavior in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). Soc. Neurosci. Abstr. 8:461.
- Hilakivi, L.A., Hilakivi Y. (1987). Increased adult behavioral despair in rats neonatally exposed to desipramine or zimelidine: An animal model of depression. Pharmacol. Biochem. Behav. 28:367-369.
- Hilakivi L.A., Sinclair J.D. (1986). Effects of neonatal clomipramine treatment on adult alcohol drinking in the AA and ANA rat lines. Pharmacol. Biochem. Behav. 24:1451-1455.
- Hilakivi L.A., Stenberg D., Sinclair J.D., Kianmaa K.(1987). Neonatal desipramine or zimelidine treatment causes long-lasting changes in brain monoaminergic systems and alcohol related behavior in rats. Psychopharmacol. 91:403-409.
- Holsboer F. (1983). Prediction of clinical course of dexamethasone suppression test (DST) response in depressed patients-physiological and clinical construct validity of the DST. Pharmacopsychiatry 16:186-191.
- Horrock P., Jones A., Ratcliffe W., Holder G., White A., Holder R., Ratcliffe J., London D. (1990). Patterns of ACTH and cortisol pulsatility over twenty-four hours in normal males and females. Clin. Endocrinol. (Oxf.) 32:127-134.
- Howard J.L., Soroko F.E., Cooper B.R. (1981). Empirical behavioral models of depression, with emphasis on tetrabenazine antagonism. In: Enna S.J., Malick J.B. and Richelson E. (Eds). Antidepressants: Neurochemical, behavioral and clinical perspective. pp:107-120. Raven Press. New York.
- Hull E.M., Pehek E.A., Bitran D., Holmes G.M., Warner R.K., Band L.C., Bazzett T., Clemens L.G. (1988). Brain localization of cholinergic influence on male sex behavior in rats: Antagonists. Pharmacol. Biochem. Behav. 31: 175-178.
- Hull E.M., Pehek E.A., Bitran D., Holmes G.M., Warner R.K., Band L.C., Bazzett T., Clemens L.G. (1988). Brain localization of cholinergic influence on male sex behavior in rats: Agonists. Pharmacol. Biochem. Behav. 31: 169-174.

- Hull E.M., Bitran D., Pehek E.A., Warner R.K., Band L.C., Holmes G.M.(1986). Dopaminergic control of male sex behavior in rats: effects of an intracerebrally-infused agonist. *Brain Res.* 370: 73-81.
- Hutchison. J.B. (1978). *Biological determinants of sexual behaviour.* John Wiley & Sons (Ed). New York, pp.521-522.
- Iversen D.S., Iversen L.L. (1981). *Behavioral Pharmacology.* Oxford University Press (Ed.). p. 201.
- Janowsky D., Craig R.S. (1987). Role of achetylcholine mechanisms in the effective disorders. Meltzer YH. In: *Psychopharmacology: The third generation of progress.* Eds Raven Press, New York. pp 527-533.
- Janowsky D.S., El-Yousef M.K., Davis J.M. (1972). A cholinergic- adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet* 2:632-635.
- Janowsky D.S., Overstreet D.H. (1995). The role of acetylcholine mechanism in mood disorders. In: F.E.Bloom and D.J. Kupfer, (Eds). *Psychopharmacology: The Fourth Generation of progress.* Reven Press, New York. pp 945-956.
- Janowsky D., Risch C., Judd L., Parker D., Huey L. (1982). Physostigmine responses as markers in affective disorder patients. In: Usdin E., Hanin I.(Eds). *Biologic Markers in Psychiatry and Neurology.* Pergamon Press, Oxford. pp 253-259.
- Johnson D.N., Funderburk W.H, Ward J.W. (1967). Preclinical evaluation of AHR-118: A potential antidepressant drug. *Curr. Ther. Res.* 12:402-413.
- Kandel R. E., Schwartz H. J. (1991). *Principles of neural science.* 2da. Ed. Elsevier Science Publishing Co., New York. pp. 720-724.
- Karki N., Kunstzman R., Brodie B.B.(1962). Storage, synthesis and metabolism of monoamines in the developing brain. *J. Neurochemistry* 9:53-58.
- Kennet G.A., Curzon G.(1987b). Antidepressant-like action of 5-HT_{1A} agonist and conventional antidepressants in a animal model of depression. *Eur. J. Pharmacol.* 141:429-435.
- Kennett G.A., Chaouloff F., Marcou M., Curzon G. (1986). Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression. *Brain Res.* 382:416-421.

- Kierniesky N.C., Gerall A.A. (1973). Effects of testosterone propionate implants in the brain on the sexual behavior and peripheral tissue of the male rat. *Physiol. Behav.* 11:633-640.
- Kitada Y., Miyauchi T., Satoh A., Satoh S. (1981). Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.* 72: 145-152.
- Kordon C., Hery M., Szafarczyk A., Ixart G., Assenmachtet Y. (1981). Serotonin and the regulation of pituitary hormone secretion and of neuroendocrine rhythms. *J. Physiol.* 77:489-496.
- Koskinen Y., Hendricks S., Yells D., Fitzpatrick D., Graber B. (1991). Yohimbine and naloxone: effects on male rat sexual behavior. *Physiol. Behav.* 50:589-593.
- Kupfer D.J.(1976). REM latency: a psychobiological markers for primary depressive disease. *Biol. Psychiatry* 11:159-174.
- Kwong L.L., Smith E.R., Davidson J.M., Peroutka S.J.(1986). Differential interactions of prosexual drugs with 5-HT_{1A} y alpha-2 adrenergic receptors. *Behav. Neurosci.* 100: 664-668.
- Larsson K. (1986). Conditioning and sexual behavior in the male rat. Almqvist and Wiksell (Ed). Stockholm.
- Larsson K. (1979). Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. In: C. Beyer (Ed) *Endocrine Control of Sexual Behavior*. Raven Press, New York. pp. 73.
- Larsson K., Ahlenius S. (1986). Masculine sexual behavior and brain monoamines. In: M. Segal (Ed). *Psychopharmacology of sexual disorders*. Libbey Press, London.
- Levitt A.J., Joffe R.T. (1988). Total testosterone in depressed men. *Acta Psychiatr. Scand.* 77:346-348.
- Leshner A.I., Remler H., Biegon A., Samuel D. (1979). Effects of desmethylimipramine (DMI) on learned helplessness. *Psychopharmacol.* 66: 207-213.
- Lloyd K.G., Garrigou D., Broekkamp C.E. (1982). The action of monoaminergic, cholinergic and gabaergic compounds in the olfactory bulbectomized rat model of depression. En: Langer S.Z., Takahashi R., Segawa T., Briley M(eds) *New vistas in depression*. Pergamon Press, New York. pp 179-186.

- Lorrain D.S., Matuszewich L., Friedman R.D., Hull E.M. (1997). Extracellular serotonin in the lateral hypothalamic area is increased during the postejaculatory interval and impairs copulation in male rats. *J. Neurosci.* 17: 9361-9366.
- Lorrain D.S., Matuszewich L., Hull E.M. (1998). 8-OH-DPAT influence extracellular levels of serotonin and dopamine in the medial preoptic area of male rats. *Brain Res* 790:217-223.
- Maier S.F., Seligman M. E.F. (1976). Learned helplessness: theory and evidence. *J. Exp Psychol. (Gen)* 1:3-46.
- Maes M., Jacobs M.P., Suy E.D., Vandewoude M., Minner B.F., Raus J. (1990b). Effects of dexamethasone on the availability of L-tryptophan and on the insulin and FFA concentrations in unipolar depressed patients. *Biol. Psychiatry* 27:854-862.
- Malsbury Ch.W. (1971). Facilitation of male rat copulatory behavior by electrical stimulation of medial preoptica area. *Physiol. Behav.* 7:797-805.
- Malmnas C.O. (1973). Monoaminergic influence of testosterone activated copulatory behavior in castrated male rats. *Acta. Physiol. Scand. (suppl)* 395: 1-3.
- Maudhuit C., Hamon M., Adrien J. (1995). Electrophysiological activity of raphe dorsalis serotonergic neurones in a possible model of endogenous depression. *Neuroreport.* 6:681-684.
- Maudhuit C., Hamon M., Adrien J. (1996) Effects of chronic treatment with zimelidine and REM sleep deprivation on the regulation of the raphe neuronal activity in a rat model of depression. *Psychopharmacol.* 124:267-274.
- Mc Intosh T.K., Barfield R.J. (1984a). Brain monoaminergic control of male reproductive behavior. I. Serotonin and the postejaculatory refractory period. *Behav. Brain Res.* 12:255-265.
- Mc Intosh T.K., Barfield R.J. (1984b). Brain monoaminergic control of male reproductive behavior II: Dopamine and the postejaculatory refractory period. *Behav. Brain Res.* 12:267-273.
- Mc Intosh T.K., Barfield R.J. (1984c). Brain monoaminergic control of refractory period. III. Norepinephrine and the postejaculatory refractory period. *Behav. Brain Res.* 12:275-279.

- Meisel R.L., Sachs B.D.(1994). The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E. and Neil J. (Eds). The physiology of reproduction. Raven Press. New York. pp 3-105.
- Meltzer H.Y., Martin T.L. (1987). The serotonin hypothesis of depression. In: Herbert Y. and Meltzer H.Y. Psychopharmacology: The third generation of progress (ed). Raven Press, New York. pp 513-525.
- Mendels J., Cochrane C. (1968). The nosology of depression: the endogenous-reactive concept. Am. J. Psychiatry 124 (suppl.1):1-11.
- Mendel J. (1970). Concept of the depression. Jhon Willey & Sons (Ed.). New York. pp. 37-38.
- Mendelson S.A., Golzalka B.B. (1985). Serotonin antagonist pirenperone inhibits sexual behavior in the male rat: attenuation by quizapine. Pharmacol. Biochem. Behav. 22:565-571.
- Mendelson S.D., McEwen B.S.(1992). Autoradiographic analyses of the effects of adrenalectomy and corticosterone on 5-HT1A and 5-HT1b receptors in the dorsal hippocampus and cortex of the rat. Neuroendocrinology 55:444-450.
- Merari A., Ginton A. (1975). Characteristics of exaggerated sexual behavior induced by electrical sstimulation of the medial preoptic area in male rats. Brain Res. 86:97-108.
- Miczek K.A., Mos J., Olivier B.(1989). Serotonin, aggression and self-destructive behavior. Psychopharmacol. Bull. 25:399-403.
- Mirmiran M.(1986). The importance of fetal/neonatal REM sleep. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 21(5-6): 283-291.
- Mirmiran M., Van de Poll N.E., Corner H.G., Van Oyen H., Boer G. (1981). Supression of active sleep by chronic treatment with clomipramine during early postnatal development: effect on adult sleep and behavior in the rat. Brain Res. 204:129-146.
- Mogenson G.J, Jones D.L., Yim C.Y. (1980). From motivation to action: Functional interfase between the limbic system and motor system. Prog. Neurobiol. 14:69-97.
- Morris A. L., Dimascio A., Killam F. K. (1978). Psychopharmacology: A generation of progress. Raven Press (Ed). New York. pp 1213-1230.

- Mrowiec J., Plech A., Brus R.(1991). Effects of cholinomimetics and cholinolytics in a despair test in mice. *Homeost. Health Dis.* 33:195-198.
- Nagayama H., Hintgen J.N., Aprison M.H. (1980). Pre-and post-synaptic serotonergic manipulations in an animal model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 13:575-579.
- Nagayama H., Hintgen J.N., Aprison M.H. (1981). Postsynaptic action by four antidepressive drugs in an animal model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15:125-130.
- Nauta W.J.H., Feirtag M. (1986). *Fundamental neuroanatomy.* W.H. Freeman (Ed). New York. pp 396.
- Neill D., Vogel G., Hagler M., Kors D., Hennessey A. (1990). Diminished sexual activity in a new model of endogenous depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:73-76.
- Nelson J. C., Charney D. S. (1981). The symptoms of major depressive illness. *Am. J. Psychiatry* 138:1-13.
- Nemeroff C.B., Wilderlöv E., Bissette G. (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* 226:1342-1344.
- Nock B., Feder H. (1982). Neurotransmitter modulation of steroid action in target cells the mediate reproduction and reproductive behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 5:437-447.
- Noreika L., Pastor G., Liebman J. (1981). Delayed emergence of antidepressant efficacy following withdrawal in olfactory bulbectomized rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15:393-398.
- Nuller J.L., Ostroumova M.N. (1980). Resistance to inhibiting effect of dexamethasone in patients with endogenous depression. *Acta Psychiatr. Scand.* 61:169-177.
- Ogawa T., Mikuni M., Kuroda Y., Muneoka K., Mori K.J., Takahashi K.(1994). Effects of the altered serotonergic signalling by neonatal treatment with 5,7-dihydroxytryptamine, ritanserin or clomipramine on adrenocortical stress response and the glucocorticoid receptor binding in the hippocampus in adult rats. *J. Neural Transm.* 96:113-123.

- Overstreet D.H. (1993). The Flinders Sensitive Line Rats: A genetic animal model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 17:51-68.
- Overstreet D.H., Russell R.W., Helps S.C. (1979). Selective breeding for sensitivity to the anticholinesterase, DFP. *Psychopharmacol.* 65:15-20.
- Overstreet D.H., Russell R.W. (1982). Selective breeding for sensitivity to DFP: Effects of cholinergic agonist and antagonists. *Psychopharmacol.* 78:150-154.
- Overstreet D.H., Russell R.W., Crocker A.D., Schiller G.D. (1984). Selective breeding for differences in cholinergic function. Pre- and post-synaptic mechanisms involved in sensitivity to the anticholinesterase, DFP. *Brain Res.* 294:227-232.
- Overstreet D.H., Russell R.W., Crocker A.D., Gillin J.C., Janowsky D.S. (1988). Genetic and pharmacological models of cholinergic supersensitivity and affective disorders. *Experientia* 44:465-472.
- Paredes R.G., Haller A.E., Manero M.C., Alvarado R., Agmo A. (1996). Medial preoptic area kindling induces sexual behavior in sexually inactive male rats. *Brain Res.* 515:20-26.
- Petty F., Sherman A.D. (1980). Reversal of learned helplessness by imipramine. *Commun. Psychopharmacol.* 3:371-373.
- Pfaff, D.W. (1982). Autoradiographic localization of radioactivity in rat brain after injection of tritiated sex hormones. *Science* 162:1355-1356.
- Philip W., Golg M.D., Frederick K., Goodwin M.D., George P. (1988). Clinical and biochemical manifestation of depression. *New Engl. J. Med.* 319:413-420.
- Piercey M.F., Smith M.W., Lum-Ragan J.T. (1994). Excitation of noradrenergic cell firing by 5-hydroxytryptamine_{1A} agonist correlates with dopamine antagonist properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 268:1297-1303.
- Plotsky P.M., Owens M.J., Nemeroff C.B. (1998). Psychoneuroendocrinology of depression. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Psychiatry Clin. North Am.* 21:293-307.
- Porsolt R.D. (1981). Behavioral Despair. En: Enna SJ, Malick JB and Richelson E (Eds): *Antidepressants: Neurochemical, Behavioral and clinical perspectives.* Raven Press. New York. pp107-129.

- Porsolt R.D., Bertin A., Jalfre M. (1977). Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 229:327-226.
- Porsolt R., Anton G., Blavet N., Jalfre M.(1978). Behavioral despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.* 47:379-391.
- Porsolt R.D., Bertin A., Blavet M., Daniel M., Jalfre M. (1979). Immobility induced by forced swimming in rats: Effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Europ. J. Pharmacol.* 57:201-210.
- Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. (1977). Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature* 266:730-732.
- Post R.M., Jimerson D.C., Ballenger J.C., Lake C.R., Uhde T.W., Goodwin F.K. (1984). The noradrenaline and depression. En R.M. Post and J.C. Ballenger (Eds). *Neurobiology of mood disorders*. Williams and Wilkins, (Eds). Baltimore. pp 539-553.
- Retana-Márquez.S., Velázquez-Moctezuma J. (1993). Evidence that the M1 muscarinic receptor subtype mediates the effects of oxotremorine on masculine sexual behavior. *Neuropsychopharmacol.* 4:267-270.
- Retana-Márquez S., Dominguez S. E., Velázquez-Moctezuma J. (1993). Muscarinic and nicotinic influences on masculine sexual behavior in rats: Effects of oxotremorine, scopolamine and nicotine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 44: 913-917.
- Reyes R.B., Hill S.Y., Kupfer D.J. (1983). Effect of acute doses of zimelidine on REM sleep in rats. *Psychopharmacol.* 80:214-216.
- Risch S.C., Cohen P.M., Janowsky D.S., Kalin N.H., Insel T.R., Murphy D.L. (1981). Physostigmine induction of depressive symptomatology in normal human subjects. *J. Psychiatry Res.* 4:89-94.
- Risch S.C., Siever L.J., Gillin J.C.(1983). Muscarinic supersensitivity of anterior pituitary ACTH release in mayor depressive illness, adrenal cortical dissociation. *Psychopharmacol. Bull.* 19:696-698.
- Rodríguez E.L., Broitman S.T. (1983). Effect of prenatal and postnatal exposure to therapeutic doses of chlorimipramine on emotionality in the rat. *Psychopharmacol.* 79:236-241.

- Roffwarg H.P., Muzio J.N., Dement W.C. (1966). Ontogenic development of human sleep dream cycle. *Science* 152: 604-619.
- Rosenwasser A.M., Hayes M.J.(1994). Neonatal desipramine treatment alters free-running circadian drinking rhythms in rat. *Psychopharmacol.* 115:237-244).
- Roy A., Pickar D., Linnoila M., Chrousos G.P., Gold P.W. (1987). Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone in depression: Relationship to noradrenergic function. *Psychiatry Res.* 20:229-237.
- Roy A., Pickar D., Linnoila M., Doran A.R., Ninan P., Paul S.M. (1985). Cerebrospinal fluid monoamine and monoamine metabolite concentrations in melancholia. *Psychiatry Res.* 15: 281-92.
- Roy A., Pickar D., Paul S., Doran A., Chousos G.P., Gold P.W. (1987). CSF corticotropin-releasing hormone in depressed patients and normal control subjects. *Am. J. Psychiatry* 144:641-645.
- Rubin R.T., Poland R., Lesser I.M. (1989). Neuroendocrine aspects of primary endogenous depression VIII. Pituitary-gonadal activity in male patients and matched control subjects. *Psychoneuroendocrinol.* 14:217-219.
- Sachar E. (1985). Disorder of feeling: Affective disorders. In: Kandel E, Schwartz J.F. (Eds). *Principles of Neural Science*. Elsevier, Nueva York. pp 17-726.
- Sachs B.D., Garinello L.D. (1979). Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. *Brain Res.* 171:152-156.
- Sachs D. B., Meisel L. R. (1988). The physiology of male sexual behavior. En: Knovil E., Neill J. (Ed). *The physiology of reproduction*. Raven Press. New York. pp 1393-1400.
- Sahakian B.J., Robbins T.W., Iversen S.D. (1977). The effects of isolation rearing on exploration in the rat. *Anim. Learn. Behav.* 5:193-198.
- Sahakian B.J., Robbins T.W., Morgan M.J., Iversen S.D. (1975). The effects of psychomotor stimulantes on steriotypy and locomotor activity in socially deprived and control rats. *Brain Res.* 84:195-205.
- Salis P.J. Dewsbury D.A. (1971). p-Chlorofhenyalanine facilitates copulatory behavior in male rats. *Nature* 232:400-401.

- Sala M., Braida D., Leone M.P., Calcaterra P., Monti S., Gori E. (1990). Central effect of yohimbine on sexual behavior in the rat. *Physiol. Behav.* 47:(1) 165-173.
- Sallanon M., Janin M., Buna C., Jouvet M.(1983). Serotonergic mechanisms and sleep rebound. *Brain Res.* 268:19-24.
- Sanghvi Y., Gershon S.(1969). The evaluation of central nervous sistem stimulants in a new laboratory test for antidepressant. *Life Sci.* 8:449-457.
- Schatzberg A.F., Schildkraut J.J. (1995). Recent studies on norepinephrine systems in mood disorders. In: F.E. Bloom and D.J. Kupfer (Eds). *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress.* Raven Press, New York. pp 911-920
- Schweizer E.E., Amsterdam J.D., Rickels K., Kaplan M., Droba M.(1986). Open trial of buspirone in the treatment of major depressive disorder. *Psychopharmacol. Bull.* 22:183-185.
- Seligman M.E.P. Beagley G. (1975). Learned helplessness in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 88:534-541.
- Selye H. (1946). The general adaptation syndrome and diseases of adaptation. *J. Clin. Endocrinol.* 6:117-173.
- Shaw D.M., Camps F.E., Eccleston E.G. (1967). 5-hydroxytryptamine in the hind brain of depressive suicides. *Br. J. Psychiatry* 113:1407-1411.
- Sherman A.D., Sacquitne J.L., Petty F. (1982). Specificity of the learned helplessness model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16: 449-454.
- Shimura T., Yamamoto T., Shimokochi M. (1994). The medial preoptic area is involved in both sexual arousal and performance in male rats: re-evaluation of neuron activity in freely moving animals. *Brain Res.* 640:215-222.
- Siever J.L. (1987). Role of noradrenergic mechanisms in the etiology of the affective disorders: In: Herbert Y. and Meltzer (Eds). *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress.* Raven Press, New York. pp 493-504.
- Simerly R.B., Swanson L.W. (1988). Projections of the medial preoptic nucleus: A phaseolus vulgaris in the medial preoptic nucleus: An immunohistochemical study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 246:343-363.

- Simerly R.B., Gorky R.A., Swanson L.W. (1998). Neurotransmitter specificity of cell and fibers in the medial preoptic nucleus: An Immunohistochemical study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 246:343-363.
- Simpkins J.W., Mueller F.P., Huang H.H., Meites J.(1977). Evidence for depressed catecholamine and enhanced serotonin metabolism in aging male rats: possible relation to gonadotropin secretion. *Endocrinology* 100:1672-1678.
- Singh V.B., Hao-Phan T., Corley K.C., Boadle-biber M.C. (1990). Increases in the activity of tryptophan hydroxylase from rat cortex and midbrain in response to acute or repeated sound stress are blocked by adrenalectomy and restored by dexamethasone treatment. *Brain Res.* 516:66-76.
- Singh V.B., Hao-Phan T., Corley K.C., Boadle-biber M.C. (1991). Increase in cortical and midbrain tryptophan hydroxylase activity by intracerebroventricular administration of corticotropin releasing factor: Block by adrenalectomy, by RU 38486 and by bilateral lesions to the central nucleus of the amygdala. *Neurochem. Int.* 20:81-92
- Sitaram N., Gillin C. (1980). Development and use of pharmacological probes of the CNS in man: Evidence of cholinergic abnormalities in primary affective illness. *Biol. Psychiatry* 15:925-955.
- Smith E.R., Davidson J.M. (1990). Yohimbine attenuates aging-induced sexual deficiencies in male rats. *Physiol. Behav.* 47(4): 631-634.
- Smith E. R., Lee R.L., Schnur S.L. Davidson J.M. (1987). Alpha adrenoreceptor antagonist and male sexual behavior: I. Mating Behavior. *Physiol. Behav.* 41:7.
- Soulairac A., Soulairac M. (1975). Monoaminergic and cholinergic control of sexual behavior in the male rat. In: M Sandler, G. Gessa (Eds.). *Sexual Behavior: Pharmacology and Behavior.* Raven Press, New York. pp:99-116
- Stanford C. (1993). Monoamines in response and adaptation to stress. In: Stanford C., Salmon P., Gray J. (Eds). *Stress. From synapse to syndrome.* Academic Press. N.Y. pp 281-331.
- Stanley W.J. (1986). *Historia de la melancolía y la depresión.* Ed. Turner, Madrid. pp 13, 177 y 221.

- Steiger A., von Bardeleben U., Wiedemann K., Holsboer F. (1991). Sleep EEG and nocturnal secretion of testosterone and cortisol in patients with major endogenous depression during acute phase and after remission. *J. Psychiatry Res.* 25:169-177.
- Stokes E.P., Sikes C.R. (1987). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis in affective disorders. In: Meltzer H. Y. (Ed). *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. Raven press, New York, pp 589-606.
- Stokes P.E. (1966): Pituitary suppression in psychiatric patients. Abstract No. 150. Program of the 48th Meeting of the endocrines Society, Chicago, Illinois. pp 101.
- Suomi S.J., Seaman S.F., Lewis J.K., DeLizio R.B., McKinney W.T. (1978). Effects of imipramine treatment on separation-induced social disorder in rhesus monkeys. *Arch. Gen. Psychiatry* 34:321-325.
- Tagliamonte A., Fratta W., DeFiacco M., Gessa G. (1974). Possible stimulatory role of brain dopamine in the copulatory behavior of male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2:257-260.
- Tallentire D., McRae G., Spedding M., Clark R., Vickery B.(1996). Modulation of sexual behavior in the rat by a potent and selective alpha-2 adrenoceptor antagonist, delequimine (RS-15385-197). *Br. J. Pharmacol.* 118:63-72.
- Undén F., Ljunggren J.G., Beck-Fries J., Kjellman B.F., Wetterberg L.(1988). Hypothalamic-pituitary-gonadal axis in major depressive disorders. *Acta Psychiatry Scand.* 78:138-146.
- Valentino R.J., Foote S.L., Aston-Jones G. (1983). Corticotropin-releasing hormone activates noradrenergic neurons of the locus coeruleus. *Brain Res.* 270:363-367.
- Van de Kar L.D. (1989). Neuroendocrine aspects of the serotonergic hypothesis of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 13:237-246.
- Velázquez-Moctezuma J. (1994). Panorámica actual de los modelos animales de depresión. *Psiquis* 1:11-13.
- Velázquez-Moctezuma J., Díaz R.O. (1992). Neonatal treatment with clomipramine increased immobility in the forced swim test: An attribute of animal models of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 42:737.

- Velázquez-Moctezuma. J., Aguilar G.A., Diaz R.O. (1993). Behavioral effects of neonatal treatment with Clomipramine, Scopolamine, and Idazoxan in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46:215-217.
- Verma S., China S.G., Kumar V.M., Singh B. (1989). Inhibition of male sexual behavior by serotonin application in the medial preoptic area. *Physiol. Behav.* 46:327-332.
- Vijayakumar M., Meti B.L.(1999). Alterations in the levels of monoamines in discrete brain regions of clomipramine-induced animal model of endogenous depression. *Neurochem. Res.* 24(3): 345-9.
- Vogel, G. W. (1983). Evidence for REM sleep deprivation as the mechanism of action of antidepressant drugs. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 7:343-349.
- Vogel G.W., Buffenstein A., Minter K., Hennessey A.(1990a). Drug effects on REM sleep and on endogenous depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:49-63.
- Vogel G., Neill D., Hagler M., Kors D. (1990c). A new animal model of endogenous depression: A summary of present findings. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:85-87.
- Vogel G., Neill D., Hagler M., Kors D., Hartley P. (1990b). Decreased intracranial self-stimulation in a new animal model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:65-68.
- Vogel G., Neill D., Kors D., Hartley P. (1990d). REM sleep abnormalities in a new animal model of endogenous depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:77-83.
- Vogel G., Hagler M., Hennessey A., Richard C. (1996). Dosis-dependent decrements in adult male rat sexual behavior after neonatal clomipramine treatment. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54: 605-609.
- Vogel G., Roth T., Gillin J.C., Mendelson W. C., Buffenstein A. (1988). REM sleep and depression. In: Oniani, T. (Ed). *Neurobiology of sleep-wakefulness cycle*. Tbilisi, USSR, Metsniereba. pp 187-188.
- Vogel G., Vogel F.A. (1982). A new animal model of human endogenous depression. *Sleep Res.* 11:222a.
- Vogt M. (1982). The role of serotonin of depression. In: *Biology of serotonergic neurotransmission*. Osborne N.N. (Ed). John Wiley & Sons Chichester. pp.229-316.

- Wehr T.A., Wirz-Justice A. (1982). Circadian rhythm mechanisms in affective illness and in antidepressant drug action. *Pharmacopsychiatry* 15:31-39.
- Weiss J.M., Goodman P.A., Losito B.G., Corrigan S., Charry J.M., Bailey W.H.(1981) Behavioral depression produced by an uncontrollable stressor: Relationship to norepinephrine, dopamine and serotonin levels in various regions of rat brain. *Brain Res. Rev.* 3:167-205.
- Williams A.M.D., Jhon M., Davis M.D. (1984). *Practical clinical psychopharmacology.* William & Wilkins, Baltimore, U.S.A. p 91.
- Willner P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacol*, 83:1-16.
- Willner P., Towell A., Sapon D., Sophokleus S., Muscat R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacol.* 93:358-364.
- Wilson J., Kuehn R., Beach F. (1963). Modification in the sexual behavior of male rats producing the stimulus female. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 56:636-644.
- Whitaker-Azmitia P.M.(1991). Role of serotonin and other neurotransmitter receptor in brain development: basis for developmental pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43:553-561.
- Woodward J.H., Emery P.W. (1987). Determination of plasma corticosterone using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography* 419:280-284.
- Young A.H., MacDonald L.M., John H., Goodwin G.M. (1992). The effects of corticosterone on 5-HT receptor function in rodents. *Neuropharmacology* 31:433-438.
- Young S.N., Smith S.E., Pihl R.O., Ervin F.R.(1985). Tryptophan depletion causes a rapid lowering of mood in normal males. *Psychopharmacology* 87:173-177.

APENDICE

Pharmacological Features of Masculine Sexual Behavior in an Animal Model of Depression

H. BONILLA-JAIME, S. RETANA-MARQUEZ AND J. VELAZQUEZ-MOCTEZUMA

Biology of Reproduction, Universidad Autonoma Metropolitana-Iztapalapa, México City, C.P. 09340, México

Received 13 February 1997; Revised 18 July 1997; Accepted 20 August 1997

BONILLA-JAIME, H., S. RETANA-MARQUEZ AND J. VELAZQUEZ-MOCTEZUMA. *Pharmacological features of masculine sexual behavior in an animal model of depression*. PHARMACOL BIOCHEM BEHAV 60(1) 39–45, 1998.— Neonatal treatment with clomipramine induces behavioral alterations during adulthood that resemble symptoms observed in human depression. Therefore, it has been proposed as an animal model of depression. Impairment of male sexual performance is one of the main effects of this treatment. Using this model of depression, we evaluated the effects of drugs that stimulate sexual performance by acting selectively on the adrenergic, serotonergic, or cholinergic system. Yohimbine, a selective antagonist of the alpha-2 receptors; 8-OH-DPAT, a selective agonist of the 5-HT_{1A} receptors; and oxotremorine, a muscarinic agonist, were administered to male rats neonatally treated with clomipramine that showed sexual behavior impairments. Yohimbine and oxotremorine induced only a slight improvement of sexual deficiencies. 8-OH-DPAT not only restored sexual behavior to normal levels, but induced facilitation in most of the copulatory parameters. These results suggest that neonatal treatment with clomipramine induces sexual deficits acting mainly on the adrenergic and cholinergic systems, while the serotonergic system seems to be preserved. © 1998 Elsevier Science Inc.

Masculine sexual behavior Models of depression Yohimbine Oxotremorine 8-OH-DPAT Clomipramine

SEVERAL proposals for animal models of depression have emerged during the last decade (29). Some of them try to replicate, in the laboratory animal, the main signs of human depression [i.e., anhedonia, decrease of locomotor activity, abnormalities in the sleep pattern, among others (9,27,30)]. Anhedonia, which is the core symptom of depression, is displayed in the laboratory rat as a clear decrease in the frequency of presentation of pleasure-seeking behaviors, which includes intracranial self-stimulation (15), consumption of water with sucrose (16,31), and sexual behavior (17).

Recently, neonatal treatment with clomipramine in rats has been proposed as an animal model of depression. During adulthood, this procedure is capable of inducing, during the adulthood, behavioral changes that closely resembles the picture displayed by depressed humans (28). These behavioral abnormalities include a decrease of aggressive and pleasure-seeking behaviors such as intracranial self-stimulation (26) and sexual behavior (17), abnormalities in the sleep pattern (14,27), altered response to stressful situations (7,25), and increased immobility in the forced swim test (24).

On the other hand, it is well known that male sexual behavior in rats is regulated by several neurotransmitter systems (2). Copulatory behavior in male rats can be enhanced by the

specific blockade of the alpha₂ receptors in the adrenergic system (4,10), the stimulation of the 5-HT_{1A} receptors in the serotonergic system (1,5), and the stimulation of muscarinic receptors in the cholinergic system (8,19). In addition to their participation in the regulation of masculine sexual behavior, the serotonergic, adrenergic, and cholinergic system have been implicated in the etiology of depression, as well [for review, see (18)].

Thus, it is possible that the alterations of masculine sexual behavior observed in this animal model of depression can be due to a failure in the monoaminergic and/or in the cholinergic system. In this study we analyze if masculine sexual behavior abnormalities induced by neonatal treatment with clomipramine can be reversed by the administration of a selective alpha₂ blocker such as yohimbine, a selective agonist of the 5-HT_{1A} receptors (10,21), 8-OH-DPAT (1,5), and a selective agonist of muscarinic receptors, oxotremorine (8,19).

METHOD

Wistar rats from our own vivarium were used in this study. Three days after delivery, female pups were eliminated and male pups were crossfostered, keeping the same size ($n = 5$)

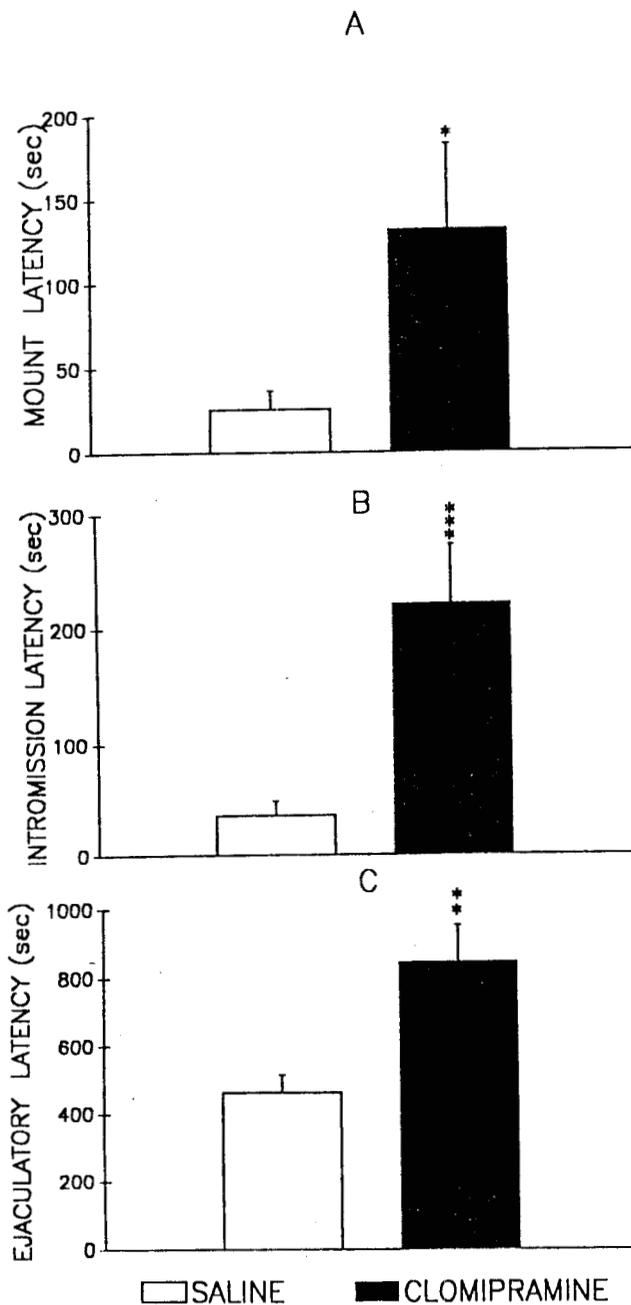


FIG. 1. Effect of neonatal administration of clomipramine or saline on mount, intromission, and ejaculation latencies displayed in a sexual behavior test performed during adulthood. Mann-Whitney U-test. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.0005$.

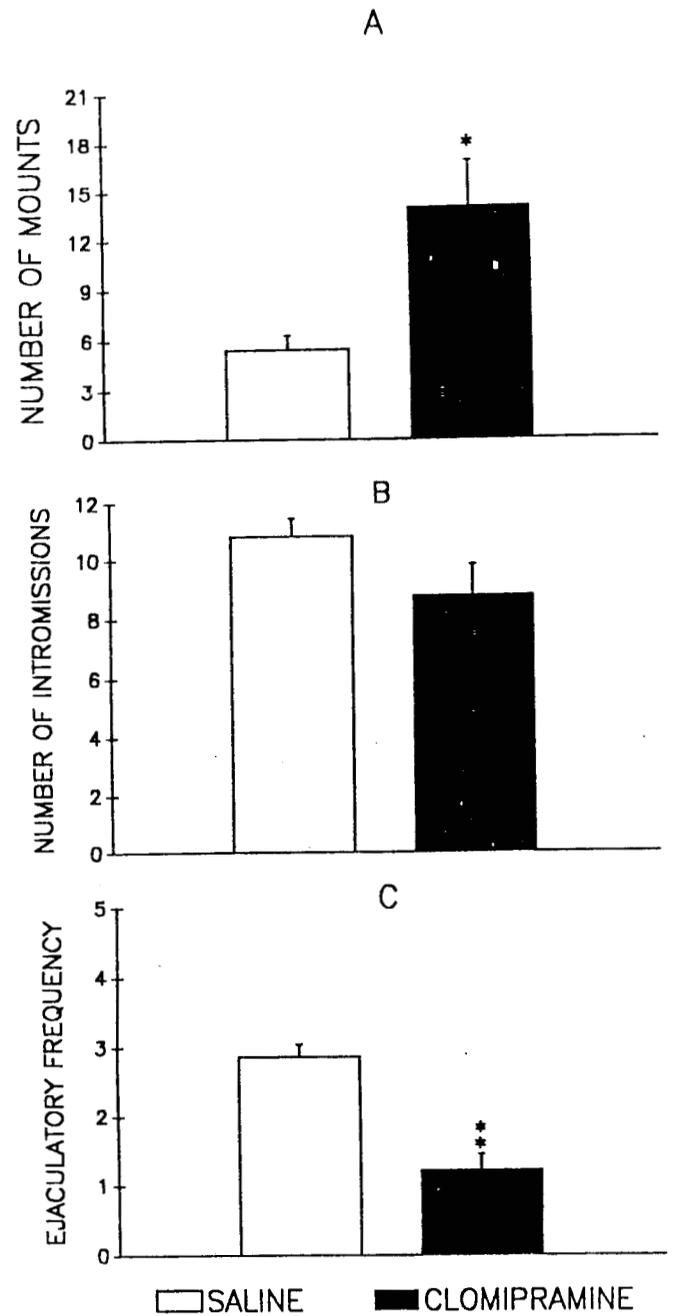


FIG. 2. (A-C) Effect of neonatal administration of clomipramine or saline on the number of mounts and intromissions preceding ejaculation as well as on ejaculatory frequency. Mann-Whitney U-test. * $p < 0.005$; ** $p < 0.0005$.

in all the litters. From day 8 to day 21 of age, all the pups were injected twice daily (0800 and 1800 h). One group ($n = 22$) received clomipramine (15 mg/kg; 0.1 ml SC) in each injection, while the control group ($n = 11$) received saline in the same volume. At 25 days of age, pups were separated from their foster mothers and were housed in groups (five per cage with the same treatment) in acrylic cages (52 × 47 cm). Animals

were kept in a room with inverted light cycle (lights on 2100 h; off 0900 h). Food and water were available ad lib.

At 5 months of age, animals were tested three times for spontaneous masculine sexual behavior, with an interval of 1 week between observations. Behavioral tests were made during the dark phase of the cycle and under a dim red light. In brief, the procedure consists in placing the male in a circu-

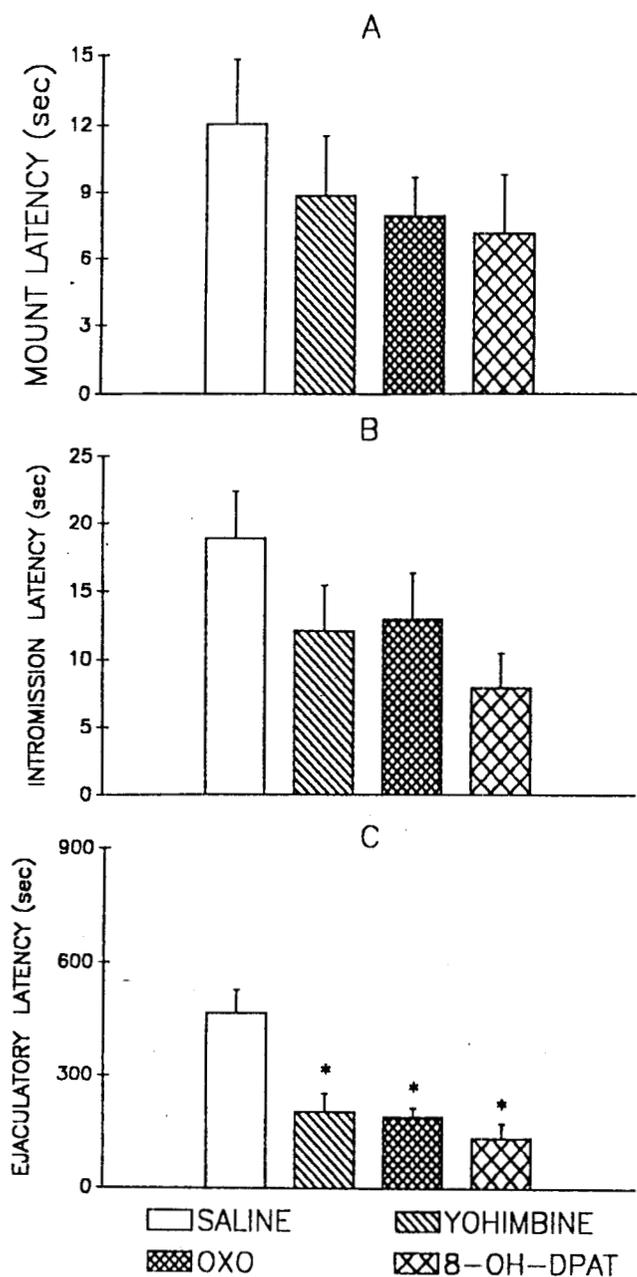


FIG. 3. Effects induced by the administration of saline or specific adrenergic, cholinergic, or serotonergic drugs on copulatory latencies of male rats neonatally injected with saline. Kruskal-Wallis test followed by Dunn test. Compared to saline administration: * $p < 0.001$.

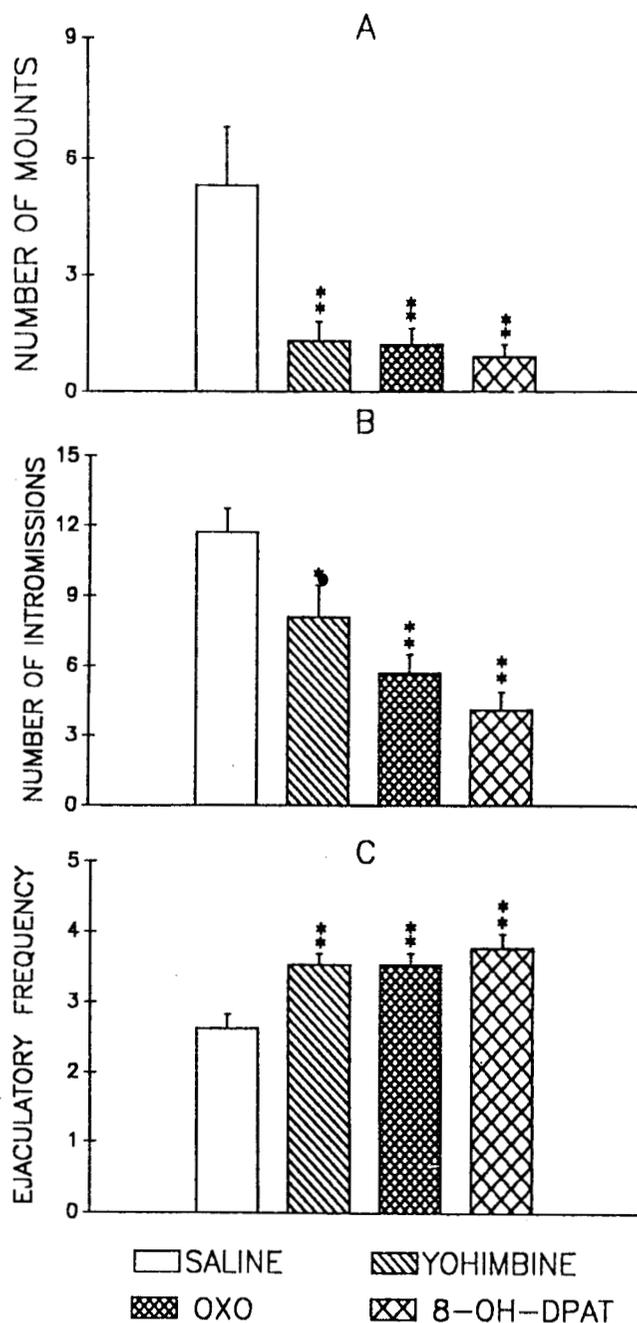


FIG. 4. (A-C) Effects induced by the administration of saline or specific adrenergic, cholinergic, or serotonergic drugs on mounts and intrusions preceding ejaculation as well as on ejaculatory frequency in male rats neonatally injected with saline. Kruskal-Wallis test followed by Dunn test. Compared to saline administration: * $p < 0.005$; ** $p < 0.001$.

lar Plexiglas arena (45 cm diameter) during 5 min for habituation. Thereafter, a stimulus female artificially brought to estrous with sequential treatment of 10 μ g of estradiol benzoate plus 1 mg of progesterone 44 h later, was presented before the male 4 h after the administration of progesterone. To avoid the Coolidge effect (32), stimulus females were changed every 5 min. The tests lasted for 30 min and the parameters recorded were latencies and frequencies of mounts, intromissions and ejaculations, postejaculatory interval, intercopulatory and in-

terintromission interval, and the hit rate (number of intromissions/number of intromissions + number of mounts). The full definition of each parameter can be found elsewhere (20).

Once basal sexual activity was obtained, another four weekly tests were done in both groups, each of them after one of the following four treatments: 1) saline; 2) yohimbine-HCl

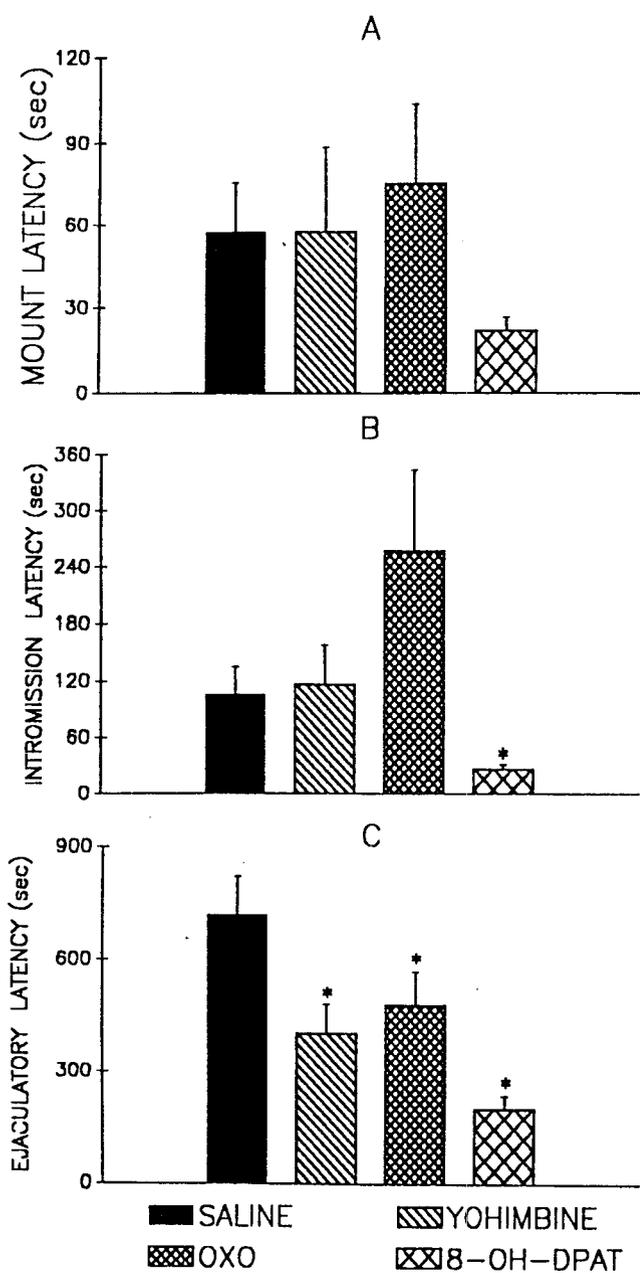


FIG. 5. (A-C) Effects induced by the administration of saline or specific adrenergic, cholinergic, or serotonergic drugs on copulatory latencies in male rats neonatally treated with clomipramine. Kruskal-Wallis test followed by Dunn test. Compared to saline administration: * $p < 0.01$.

(Sigma Co., St. Louis, MO) 2 mg/kg b.wt., 30 min before the onset of the test; 3) 8-hydroxi-2-dimetil-m-propilamino treta-lin (8-OH-DPAT) (Res. Biochem. Inc.) 0.125 mg/kg b.wt., 15 min before the test; and 4) oxtremorine sesquifumarate (OXO) (Sigma Co.) 0.4 mg/kg b.wt., 30 min before test. All the injections were intraperitoneal in a volume of 0.3 ml OXO and 8-OH-DPAT were dissolved in saline. Yohimbine was dissolved in distilled water. Fifteen minutes before OXO admini-

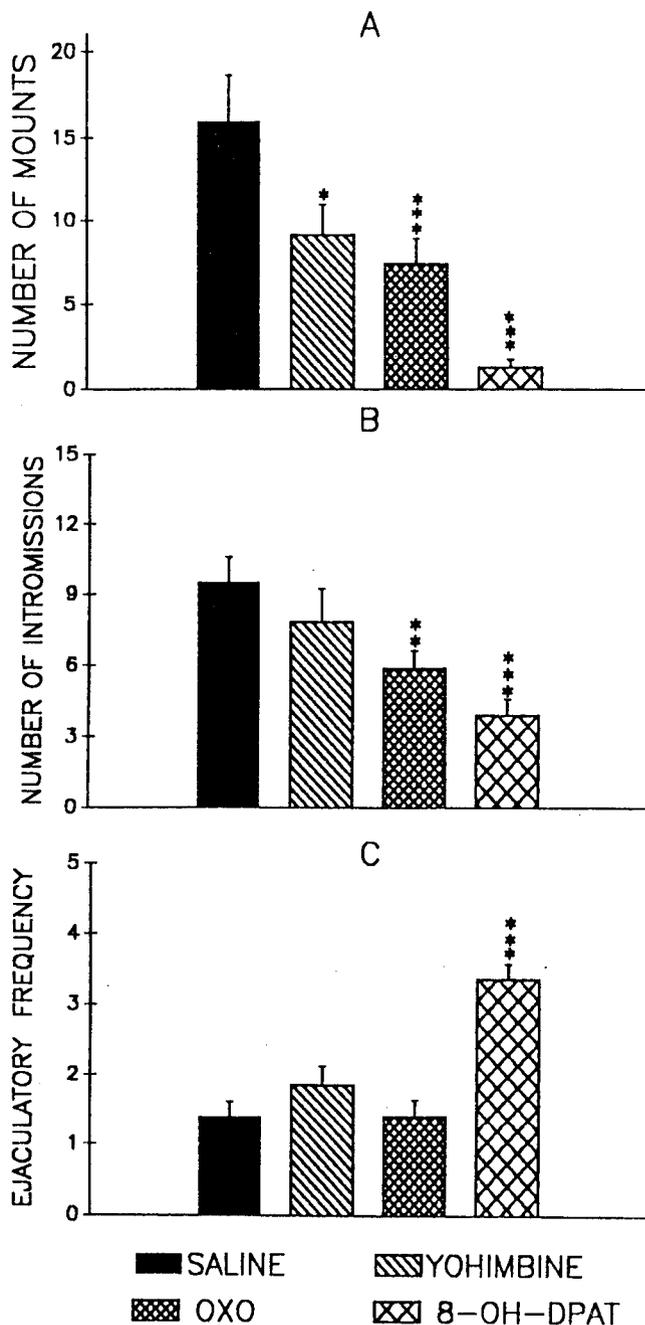


FIG. 6. (A-C) Effects induced by the administration of saline or specific adrenergic, cholinergic, or serotonergic drugs on mounts and intromissions preceding ejaculation as well as on ejaculatory frequency in male rats neonatally treated with clomipramine. Kruskal-Wallis test followed by Dunn test. * $p < 0.01$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.001$.

istration, subjects received peripheral muscarinic blockage with scopolamine-methyl bromide in a dose of 3 mg/kg b.wt. The subjects received all the injections in a random sequence following a Latin square design. The dose selected for each drug has been reported as reliable to induce a clear stimulatory effect on male sexual performance (1,4,19).

Statistical analysis of spontaneous sexual activity was done using the Mann-Whitney U-test. The Kruskal-Wallis test was used to analyze the effect of the different injections. When significant, it was followed by the Dunn test.

RESULTS

After three sexual behavior tests, all the subjects displayed activity. Figure 1 shows the effects of neonatal treatment with clomipramine on mount, intromission, and ejaculation latencies. As can be seen, when compared to the saline group, a significant increase of mount, intromission, and ejaculation latencies is present. In addition, the number of mounts (Fig. 2A) in the clomipramine group showed a huge increase. Ejaculatory frequency (Fig. 2C) displayed a significant reduction. The number of intromissions preceding ejaculation did not show differences between saline and clomipramine treatment (Fig. 2B).

Figure 3 shows the effect of the administration of yohimbine, oxotremorine, and 8-OH-DPAT in the copulatory latencies of the group neonatally treated with saline. As can be seen, mount and intromission latencies showed a trend to decrease. All the treatments induced a significant shortening of the ejaculatory latency. In addition, the number of mounts (Fig. 4A) and the number of intromissions preceding ejaculation (Fig. 4B) are drastically reduced. The final corroboration of the stimulatory effect of these treatments is related to the ejaculatory frequency that presented a significant increase when compared to the effect of the administration of saline (Fig. 4C).

Regarding the effect of yohimbine administered to the rats neonatally treated with clomipramine, there was a significant reduction of the ejaculatory latency (Fig. 5C). There was an important trend to decrease in the number of mounts that did not reach statistical significance (Fig. 6A). After OXO administration, mount and intromission latencies showed a large dispersion with a mean higher than the mean obtained with saline (Fig. 5A and B). The ejaculatory latency showed an important reduction; however, it did not reach statistical significance (Fig. 5C). OXO administration elicited a significant reduction in the number of mounts and intromissions preceding ejaculation (Fig. 6A and B).

On the other hand, 8-OH-DPAT administration induced a clear stimulation in almost all parameters. As shown in Fig. 5B and C, intromission and ejaculation latencies were significantly reduced. The same effect was observed in the number of mounts and intromissions preceding ejaculation (Fig. 6A and B), which were drastically reduced. Ejaculatory frequency displayed a significant increase compared with the rest of the treatments in the neonatally clomipramine treated group (Fig. 6C). All the effects induced by 8-OH-DPAT were also statistically significant when compared with the data obtained in the animals neonatally injected with saline, revealing not only a normalization of the sexual impairments induced by neonatal clomipramine, but a stimulatory effect in sexual performance. Figure 7A and B shows the effect of the different treatments on the hit rate in both groups. As can be noted, only the injection of 8-OH-DPAT in rats neonatally treated with clomipramine elicited a significant increase.

DISCUSSION

The present results corroborate previous reports regarding the impairment effect of neonatal treatment with clomipramine on masculine sexual performance in rats (17,23). Per-

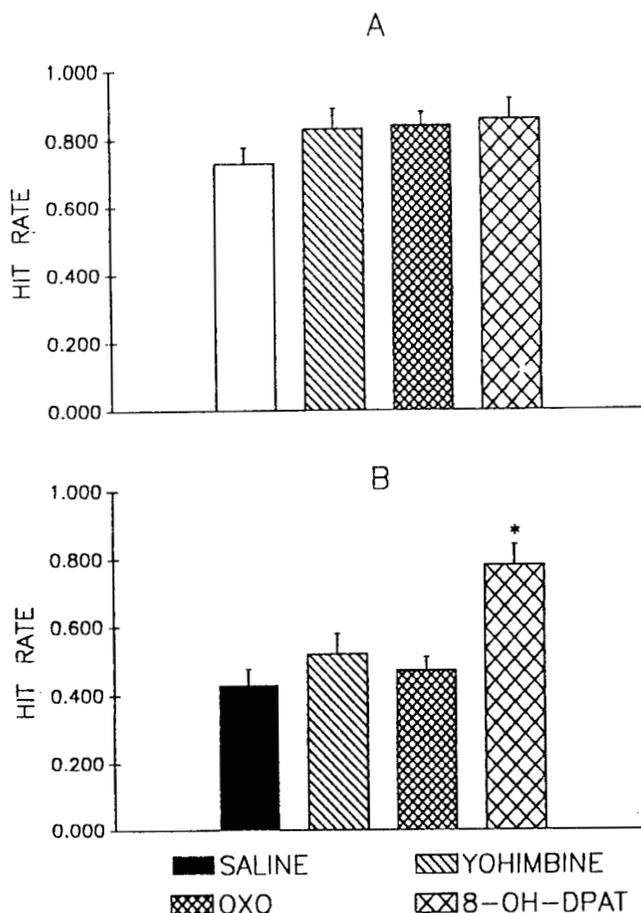


FIG. 7. Effect on the hit rate of the administration of saline or specific adrenergic, cholinergic, and serotonergic drugs in rats neonatally injected with saline (A) or clomipramine (B). Kruskal-Wallis test followed by Dunn test. * $p < 0.001$.

centages of active subjects displaying mounts and intromissions both in control and in clomipramine-treated males are similar to those reported by Mirmiran et al. (13), but not by Neill et al. (17), who reported lower percentages of males with mounts and intromissions. Regarding the percentages of males that ejaculate, our results are very similar with those previously reported. We observed that 60% of the clomipramine-treated males displayed ejaculation, while the percentages reported by Mirmiran et al. as well as Neill et al. were 50 and 20%, respectively.

The analysis of sexual parameters showed remarkable differences between our results and those reported by Neill et al. In that study, control Wistar rats displayed much longer mount latencies (1101 s) than in our study (15 s) as well as a lower number of ejaculations [0.5 in that study and three in our study in the same testing period (30 min)]. These differences could be due to the housing conditions or to the hormonal manipulation of stimulus females.

On the other hand, it is well known that yohimbine has a stimulatory effect on masculine sexual performance in rats and humans (3,6,10). It has been claimed that these effects are due to selective blockage of the alpha-2 presynaptic receptors,

which results in an increased availability of catecholamines at synaptic levels (4,22). Supporting this notion, another alpha-2 blocker, Idazoxan, has proved to have the same stimulatory effect on sexual behavior (11,21). In our study, blockade of alpha-2 receptors showed a stimulatory effect in the group neonatally treated with saline, but in the group neonatally treated with clomipramine, yohimbine administration induced a significant decrease of ejaculatory latency. Thus, the data indicate that this drug failed to stimulate sexual performance, which suggests that the catecholaminergic system has been permanently altered by the neonatal administration of clomipramine.

Concerning the cholinergic system, it has been reported that the stimulation, mainly of the muscarinic receptors, elicits a facilitation of masculine sexual performance in the rat (8,19). Oxotremorine readily induces a decrease in the number of mounts and intromissions that precede ejaculation, shortening of the ejaculation latency and a significant increase of ejaculation frequency (8,19). In the rats neonatally treated with clomipramine, the stimulatory effect of OXO is limited to a decrease in the number of mounts and intromissions. Thus, the failure of oxotremorine to fully enhance sexual performance in rats neonatally treated with clomipramine suggests that the cholinergic system, and specifically the muscarinic receptors, have been permanently modified.

Early studies on the serotonergic regulation of sexual behavior indicated an inhibitory role on masculine performance [for review, see (2,12)]. However, an outstanding facilitation

of masculine sexual performance can be seen after the administration of more specific agents, such as 8-OH-DPAT, which selectively stimulates the 5-HT_{1A} serotonergic receptor subtype, revealing a more complex participation of serotonin in the regulation of masculine sexual behavior (1,5). In this study, the administration of 8-OH-DPAT to neonatally treated animals resulted not only in the normalization of masculine sexual deficiencies, but in the stimulation of sexual parameters that very closely resembles the facilitation observed in normal rats. These results suggest that the serotonergic system, especially the part linked to the 5-HT_{1A} receptor subtype, was not affected by neonatal administration of clomipramine.

Finally, the notion that neonatal clomipramine administration could induce a depressive-like behavior during the adulthood is supported by the results concerning masculine sexual behavior. The pharmacological evidence in the present study suggests that these behavioral changes are due to permanent changes mainly in the adrenergic and cholinergic systems, without the participation of the serotonergic system.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to express their gratitude to Ms. Edith Monroy for her expert advice in the revision of the text. This work was partly supported by CONACyT Grants 400 200-1703-M9207 and 400 200 1789P-M9507.

REFERENCES

- Ahlenius, S.; Larsson, K.; Svensson, L.; Hjorth, S.; Carlsson, A.: Effect of a new type of 5-HT receptor agonist on male rat sexual behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15:785-792; 1981.
- Bitran, D.; Hull, M.: Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 11:365-389; 1987.
- Carey, M. P.; Johnson, B. T.: Effectiveness of yohimbine in the treatment of erectile disorder: Four meta-analytic integrations. *Arch. Sex. Behav.* 25:341-360; 1996.
- Clark, J. T.; Smith, E. R.; Davidson, J. M.: Evidence for the modulation of sexual behavior by alpha-adrenoceptors in male rats. *Neuroendocrinology* 41:36-43; 1985.
- Dahlof, L. G.; Ahlenius, S.; Larsson, K.: Copulatory performance of penile desensitized male rats following the administration of 8-OH-DPAT. *Physiol. Behav.* 43:841-843; 1988.
- Dewire, D. M.; Todd, E.; Meyers, S. P.: Patient satisfaction with current impotence therapy. *Wis. Med. J.* 94:10; 1995.
- Hilakivi, L. A.; Hilakivi, I.: Increased adult behavioral "despair" in rats neonatally exposed to desipramine or zimeldine: An animal model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 28:367-369; 1987.
- Hull, E.; Bitran, D.; Pehek, E.; Holmes, G.; Warner, R.; Band, L.; Clement, L.: Brain localization of cholinergic influence on male sexual behavior in rats: Agonist. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31:169-174; 1988.
- Katz, R. J.: Animal model of depression: Pharmacology sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 22:631-634; 1983.
- Koskinen, I.; Hendricks, S.; Yells, D.; Fitzpatrick, D.; Graber, B.: Yohimbine and naloxone: Effects on male rat sexual behavior. *Physiol. Behav.* 50:589-593; 1990.
- Kwong, L. L.; Smith, E. R.; Davidson, J. M.; Peroutka, S. J.: Differential interactions of prosexual drugs with 5-HT_{1A} and alpha-2 adrenergic receptors. *Behav. Neurosci.* 100:664-668; 1986.
- Meyerson, B. J.; Malmnas, C.-O.; Everitt, J. B.: Neuropharmacology, neurotransmitters and sexual behavior in mammals. In: Adler, N. T.; Pfaff, D. W.; Goy, R. W., eds. *Handbook of behavioral neurobiology*. New York: Plenum Press; 77:495-536; 1985.
- Mirmiran, M.; Scholtens, J.; Van de Poll, N. E.; Uylings, H. B. M.; Van Der Gugten, J.; Boer, G. J.: Effects of experimental suppression of active (REM) sleep during early development upon adult brain and behavior in the rat. *Dev. Brain Res.* 7:277-286; 1983.
- Mirmiran, M.; Van de Poll, N. E.; Corner, H. G.; Van Oyen, H.; Boer, G.: Suppression of active sleep by chronic treatment with clomipramine during early postnatal development: Effect on adult sleep and behavior in the rat. *Brain Res.* 204:129-146; 1981.
- Muscat, R.; Towell, A.; Willner, P.: Changes in dopamine autoreceptor sensitivity in an animal model of depression. *Psychopharmacology (Berlin)* 94:545-550; 1988.
- Muscat, R.; Willner, P.: Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: A methodological analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 16:507-517; 1992.
- Neill, D.; Vogel, G.; Hagler, M.; Kors, D.; Hennessey, A.: Diminished sexual activity in a new animal model of endogenous depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:73-76; 1990.
- Overstreet, D. H.: The Flinders sensitive line rats: A genetic animal model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 17:51-68; 1993.
- Retana-Marquez, S.; Dominguez-Salazar, E.; Velázquez-Moctezuma, J.: Muscarinic and nicotinic influences on masculine sexual behavior in rats: Effects of oxotremorine, scopolamine and nicotine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 44:913-917; 1993.
- Sachs, B.; Meisel, R.: The physiology of male sexual behavior. In: Knobil, E.; Neil, J., eds. *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press; 1988:1393-1482.
- Smith, E. R.; Lee, R. L.; Schnur, S. L.; Davidson, J. M.: Alpha-2 adrenoceptor antagonist and male sexual behavior I. Mating behavior. *Physiol. Behav.* 41:7-14; 1987.
- Tallentire, D.; McRae, G.; Spedding, M.; Clark, R.; Vickery, B.: Modulation of sexual behavior in the rat by a potent and selective alpha-2 adrenoceptor antagonist, delequinine (RS-15385-197). *Br. J. Pharmacol.* 118:63-72; 1996.
- Velázquez-Moctezuma, J.; Aguilar-García, A.; Díaz-Ruiz, O.: Behavioral effects of neonatal treatment with clomipramine, scopolamine and idazoxan in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46:215-217; 1993.
- Velázquez-Moctezuma, J.; Díaz, R. O.: Neonatal treatment with

- clomipramine increased immobility in the forced swim test: An attribute of animal models of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 42:737-739; 1992.
25. Vogel, G.; Hartley, P.; Neill, D.; Hagler, M.; Kors, D.: Animal depression model by neonatal clomipramine: Reduction of shock induced aggression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31:103-106; 1988.
 26. Vogel, G.; Neill, D.; Hagler, M.; Kors, D.; Hartley, P.: Decreased intracranial self-stimulation in a new animal model of endogenous depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:65-68; 1990.
 27. Vogel, G.; Neill, D.; Kors, D.; Hagler, M.: REM sleep abnormalities in a new animal model of endogenous depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:77-83; 1990.
 28. Vogel, G.; Neill, D.; Hagler, M.; Kors, D.: A new animal model of endogenous depression: A summary of present findings. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14:85-91; 1990.
 29. Willner, P.: The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berlin)* 83:1-16; 1984.
 30. Willner, P.: Animal models of depression: An overview. *Pharmacol. Ther.* 45:425-455; 1990.
 31. Willner, P.; Towell, A.; Sampson, D.; Sophokleus, S.; Muscat, P.: Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berlin)* 93:358-364; 1987.
 32. Wilson, J.; Kuehn, R.; Beach, F.: Modification in the sexual behavior of male rats produced by changing the stimulus female. *J Comp. Physiol. Psychol.* 56:636-644; 1963.