



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Iztapalapa
División Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Ciencias de la Salud.

“Participación del 17β -estradiol y el receptor 5-HT_{1A} en las alteraciones conductuales en un modelo animal de depresión”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Presenta:

Bióloga Experimental Ofelia Limón Morales.

Codirectores

Dra. Herlinda Bonilla Jaime
Dr. Gonzalo Vázquez Palacios

Asesor

Dr. Cesar Soria Fregozo

Comité Tutorial

Codirectora

Dra. Herlinda Bonilla Jaime

Profesor-Investigador Titular C

Departamento de Biología de la Reproducción

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Codirector

Dr. Gonzalo Vázquez Palacios

Profesor-Investigador

Colegio de Ciencia y Tecnología

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

San Lorenzo Tezonco

Asesor

Dr. Cesar Soria Fregozo

Profesor-Investigador

Centro universitario de los Lagos

Universidad de Guadalajara

El programa de la Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM-I 309-1) pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia CONACyT PIFOP-CONACyT-SEP y cuenta con apoyo del mismo Consejo a través del convenio 309-0, con la clave C/2002-35-32.

El presente trabajo fue realizado en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, en el laboratorio de Farmacología Conductual y Reproductiva, bajo la dirección de la Dra. Herlinda Bonilla Jaime y el Dr. Gonzalo Vázquez Palacios; y en el laboratorio de Psicobiología del Centro Universitario de los Lagos, perteneciente a la Universidad de Guadalajara, con la asesoría del Dr. Cesar Soria Fregozo. La alumna Ofelia Limón Morales recibió apoyo de CONACyT, número de registro (CVU/Becario) 268133/ 224660.

Los miembros del jurado designados por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada “Participación del 17β -estradiol y el receptor 5-HT_{1A} en las alteraciones conductuales en un modelo animal de depresión” con fecha 7 de Abril del 2011.

Dra. Marcela Arteaga Silva

(Presidente)

Profesor Titular C

Departamento de Biología de la Reproducción

Universidad Autónoma Metropolitana-
Iztapalapa

Dr. Cesar Soria Fregozo

(Secretario)

Profesor Investigador

Departamento de Ciencias de la Tierra y de la
Vida.

Centro Universitario de los Lagos, Universidad
de Guadalajara.

Dra. Ma. Isabel Pérez Vega

(Vocal)

Profesor Investigador

Departamento de Ciencias de la Tierra y de la
Vida.

Centro Universitario de los Lagos, Universidad
de Guadalajara.

Dra. Sonia Galván Arzate

(Vocal)

Investigador en Ciencias Médicas

Departamento de Neuroquímica

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía

Dedicatorias

A mis Padres

Porque sin su apoyo incondicional y sus sacrificios esto no sería posible, porque gracias a sus enseñanzas y ejemplo soy quien soy. Porque a pesar de todo siguen ofreciéndome su comprensión. Son mi principal motor para seguir adelante. Los quiero infinitamente!!!

A mis hermanas

Porque aunque somos muy diferentes siempre estamos unidas en las buenas y en las malas. Gracias por estar conmigo siempre y formar una parte muy importante de mi vida. Y sobre todo gracias por darme los recuerdos más entrañables de mi infancia y tres hermosos sobrinos.

A mis pequeños (Isaac, Nataly y Alison)

Porque desde su llegada han llenado de alegría y luz cada momento. Porque cada día me enseñan que las cosas simples en la vida son las más importantes.

A Isaac

Gracias por existir y haber llegado a mi vida. Por demostrarme tu amor todos los días y por poner una sonrisa en mi cara. Eres mi razón para ser mejor persona cada día. Gracias por ser como eres. **TE AMO MUCHO, MUCHO!!!**

Agradecimientos

A mis tutores

Dra. Herlinda Bonilla Jaime, Dr. Gonzalo Vázquez Palacios y Dr. Cesar Soria Fregozo, por compartir conmigo su tiempo y conocimientos, gracias a su apoyo, comentarios y sugerencias hoy puede verse cristalizado el producto de dos años de trabajo.

A mis amigos y compañeros de laboratorio

Ana López, Miguel Alcántara, Malinali Brianza, Gabriela Guadarrama y Edgar Ortiz, gracias por su apoyo y ayuda. Y gracias por los buenos ratos que hemos pasado tanto en el laboratorio como fuera de él.

A mis amigos de Lagos

Ramsés y Raúl, por hacer más amenos mis ratos en un lugar nuevo, por hacerme reír, por ayudarme en el laboratorio y sobre todo por compartir su amistad conmigo...

A CONACyT

Por apoyarme económicamente durante la realización de mi maestría. (CVU/Becario) 268133/ 224660.

INDICE

Resumen	10
1. Introducción	11
1.1 Antecedentes	12
1.1.1 Neuroquímica de la Depresión	13
Hipótesis Monoaminérgica	13
1.1.2 Neuroanatomía de la depresión	14
Núcleo del rafé	15
Hipotálamo	16
Hipocampo	17
1.2 Sistema serotoninérgico	19
1.2.1 Receptor 5-HT_{1A}	20
1.3 Estrógenos	21
A. Acciones Genómicas	22
B. Acciones No-Genómicas	23
1.3.1 Estrógenos y depresión	24
1.4 Conducta sexual masculina (CSM)	25
1.4.1 Aspectos neuroendocrinos de la CSM	28
1.5 Modelos animales de depresión	29
1.5.1 Prueba de nado forzado (PNF)	31
1.5.2 Modelo de depresión inducido neonatalmente por clomipramina	33
2. Justificación	36
3. Objetivo general	37
3.1 Objetivos particulares	37
4. Hipótesis	37
5. Metodología	38
5.1 Modelo animal de depresión inducido neonatalmente por CLI	38
5.2. Evaluación farmacológica de la función del receptor 5-HT_{1A} en la Prueba de Nado Forzado	38
5.3. Evaluación de la expresión del receptor 5-HT_{1A} en ratas tratadas neonatalmente con CLI	40
5.4. Evaluación de la CSM después de la administración de E₂	41

5.5. Análisis estadístico	44
6. Resultados	45
6.1. Evaluación del efecto del tratamiento neonatal con CLI en la Prueba de Nado Forzado	45
6.2. Evaluación farmacológica de la función del receptor 5-HT_{1A} en la Prueba de Nado Forzado	46
6.3. Evaluación de la expresión del receptor 5-HT_{1A} en ratas tratadas con CLI	46
6.4. Efecto del tratamiento neonatal con CLI sobre la CSM	49
6.5. Evaluación de la CSM luego de la administración de E₂	52
7. Discusión y Conclusión	67
8. Perspectivas	84
9. Referencias	85

RESUMEN

El tratamiento neonatal con clomipramina (CLI) en ratas ha sido considerado como un modelo de depresión, que en la edad adulta produce alteraciones que se asemejan a signos de la depresión endógena en humanos. Estas alteraciones se atribuyen a deficiencias en sistemas de neurotransmisión tales como; el sistema noradrenérgico y el sistema serotoninérgico provocadas por el tratamiento en etapas críticas del desarrollo. Dentro de las alteraciones en el sistema serotoninérgico encontramos niveles disminuidos de serotonina (5-HT) en áreas límbicas, un incremento de la conducta de inmovilidad acompañado de disminución del nado en la prueba de nado Forzado (PNF) y un incremento en la tasa de disparo neuronal en el núcleo del rafé dorsal, indicando una posible alteración en la función del receptor 5-HT_{1A} (receptor que inhibe el disparo neuronal, la síntesis y la liberación de 5-HT), que se encuentra sobre expresado en pacientes deprimidos víctimas de suicidio y en algunos modelos de depresión, y constituye un importante blanco de fármacos antidepresivos. Otra de las alteraciones observadas en ratas tratadas neonatalmente con CLI es un deterioro de la conducta sexual masculina (CSM), cuyo despliegue es controlado por hormonas como la testosterona, que se metaboliza a dihidrotestosterona (DHT) y el 17- β estradiol (E₂), esta última es la responsable de los efectos centrales de la testosterona sobre la cópula, así como de regular múltiples procesos fisiológicos tanto en el estado de ánimo como en la depresión. El interés del presente trabajo fue analizar el papel del receptor 5-HT_{1A} y del E₂ en las alteraciones conductuales que presentan las ratas tratadas neonatalmente con CLI. Para lo cual se utilizaron ratas Wistar que fueron inyectadas con CLI o solución salina en la etapa neonatal (8-21 días de edad). Tres meses después se dividieron en grupos para realizar los siguientes objetivos; 1) Evaluación de la funcionalidad del receptor 5-HT_{1A} por medio de la administración del agonista 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tertralina (8-OH-DPAT) en la Prueba de Nado Forzado (PNF), 2) Análisis del efecto del tratamiento con CLI sobre la expresión de receptor 5-HT_{1A} y 3) Efecto de la administración de E₂ y DHT sobre la CSM alterada en ratas tratadas neonatalmente con CLI. Los resultados muestran que el tratamiento neonatal con CLI afecta el despliegue conductual en la PNF, incrementando la inmovilidad y disminuyendo la conducta de nado. Por otro lado, la administración de 8-OH-DPAT disminuye la inmovilidad incrementando el nado a niveles similares a los observados en el control evidenciando que no existen alteraciones funcionales en el receptor 5-HT_{1A}. El análisis de la expresión de este receptor muestra que el tratamiento neonatal con CLI disminuye los niveles del ARNm para el receptor 5-HT_{1A} en el núcleo del rafé y que por el contrario lo incrementa en hipotálamo e hipocampo alterando la síntesis y liberación de 5-HT en diferentes áreas cerebrales. Por último, corroboramos que el tratamiento neonatal con CLI afecta negativamente la CSM disminuyendo la frecuencia de eyaculación e incrementando las latencias de monta, intromisión y eyaculación, además de disminuir los porcentajes de individuos que intromiten y eyaculan. Dichas alteraciones se revierten con la administración de E₂ exógeno en combinación con DHT, abriendo la posibilidad de que la síntesis o la respuesta a estas hormonas se pueda ver alterada por el tratamiento neonatal con CLI. Nuestros resultados sugieren que el tratamiento neonatal afecta diferentes componentes del sistema serotoninérgico y así mismo afecta la acción de hormonas sexuales como E₂ sobre conductas como la CSM.

1. INTRODUCCIÓN

Se suelen denominar trastornos afectivos a los problemas relacionados con el estado de ánimo. La depresión es un trastorno afectivo que se ha convertido en los últimos años en uno de los más relevantes dentro de las enfermedades mentales y en un grave problema de salud pública debido tanto a su alta prevalencia como a la incapacidad que produce. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2006) ha previsto que para el año 2020 se convertirá en la primera causa de discapacidad laboral en países industrializados y la segunda a nivel mundial, sólo detrás de las enfermedades isquémicas (infartos, insuficiencia coronaria, etc.). Este padecimiento en casos severos y sin una terapia adecuada tiende a hacerse recurrente y a causar discapacidad que se acentúa con el tiempo y puede poner en riesgo la vida de los afectados, ya que se ha estimado que cerca del 70% de los suicidios a nivel mundial están relacionados con episodios depresivos mayores no tratados (OMS, 2006). De modo que la depresión se encuentra entre las diez primeras causas de mortalidad y morbilidad en el mundo (Mathers, *et al.*, 2004).

En México, las estadísticas de este padecimiento en el año 2005 mostraron que alrededor del 8% de la población general padece depresión, con importantes diferencias entre géneros: 5.8% en las mujeres y 2.5% en hombres, además de que este porcentaje se incrementa en relación con la edad (Belló, *et al.*, 2005).

Por mucho tiempo se creyó que la depresión no existía en niños, pero estudios recientes sugieren que la edad de inicio para el trastorno depresivo y la aparición del primer episodio de depresión mayor está disminuyendo (Sandanger, *et al.*, 1999; Mazza, *et al.* 2009). Se estima una prevalencia del 2% entre los 9 y 17 años (Benjet, *et al.* 2004). De acuerdo con la Encuesta Nacional de Exclusión, Intolerancia y Violencia, el 54.6% de los estudiantes de nivel bachillerato en México reporta haber presentado síntomas depresivos tales como: disminución del apetito, tristeza, o sentimientos de culpa y minusvalía; y un 8.8% de estos jóvenes dice haber intentado quitarse la vida (SEP, 2008).

Desafortunadamente, y a pesar de la gravedad de los datos sólo una tercera parte de los individuos con depresión reciben tratamiento adecuado debido no solo a la falta de reconocimiento clínico, sino también a que los individuos suelen concebirla como un

defecto de carácter que puede ser superada únicamente con esfuerzo y al mismo tiempo es causa de vergüenza que debe ocultarse (Stahl, 2002).

1.1. ANTECEDENTES

En la actualidad se considera que el término depresión mayor se atribuye a diversos estados patológicos con un curso temporal y una respuesta variable a los tratamientos antidepressivos, que en realidad, constituyen un “síndrome depresivo” más que una enfermedad. Sus principales manifestaciones se expresan en el plano psicológico, aunque involucra alteraciones neuroquímicas y en los sistemas neuroendocrino e inmunológico. Actualmente se piensa que este síndrome se origina de la interacción compleja entre una predisposición genética y factores ambientales que producen cambios significativos en la actividad del Sistema Nervioso Central (SNC) (Mc Laren, 2004; Mathers, *et al.*, 2004; Tsankova, *et al.*, 2007). Así, se ha considerado a la depresión como un trastorno biológico y al mismo tiempo una respuesta al estrés psicosocial que incapacita al individuo para afrontar dicha situación. Clínicamente se pueden considerar dos formas básicas de depresión: la depresión reactiva o exógena que se produce por eventos de la vida externa que afectan el estado de ánimo del individuo, como la pérdida de algún familiar, desempleo, enfermedades invalidantes, etc.; y la depresión endógena o mayor, la cual se presenta sin que exista causa externa aparente y que persiste más allá de un período justificado de tiempo, este tipo de depresión es generada por cambios bioquímicos en el SNC y el curso de este es usualmente autónomo, es decir; mantiene independencia de estímulos externos en el inicio y mantenimiento del desorden y se cree que se encuentra relacionado con cierta predisposición genética (DSM_IV_TR, 2003).

De acuerdo con la Asociación Americana de Psiquiatría, un episodio depresivo mayor debe tener, una duración de por lo menos dos semanas, durante las cuales se presentan dos síntomas principales: tristeza (talante disfórico) e incapacidad para experimentar placer o pérdida de interés en casi todas las actividades (anhedonia) (DSM-IV-TR, 2003; Berton y Nestler, 2006).

Para que un paciente pueda ser diagnosticado con depresión se requiere que presente los dos síntomas principales o sólo uno de ellos acompañado de al menos cuatro síntomas secundarios entre los que se incluyen cambios en el apetito, alteraciones del sueño (insomnio o exceso de sueño) y alteraciones de la actividad psicomotora

(agitación o aletargamiento), falta de energía, sentimiento de culpa, dificultad de pensar, de concentrarse o para tomar decisiones, pensamientos o ideaciones de muerte, planes o intentos suicidas, así como una reducción del deseo sexual y; alteraciones en diferentes ritmos circadianos (secreción de cortisol, temperatura corporal, etc) (Bunney y Bunney, 2000; Gouin, *et al.*, 2010).

1.1.1. Neuroquímica de la Depresión

El conocimiento de los diferentes neurotransmisores y neurohormonas ha permitido formular varias hipótesis acerca del origen de diversas psicopatologías, entre ellas la depresión, estableciendo la posible relación entre estados afectivos y patologías neuroendocrinas. Diferentes evidencias experimentales vinculan la hipofunción de vías neuronales especialmente de las aminas biogénicas centrales como: noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT) con la patogénesis de los trastornos afectivos, ya que estas participan tanto en la expresión como en la regulación de varias de las conductas que acompañan a este tipo de padecimientos. Mientras que por otra parte, la mayoría de los tratamientos farmacológicos van dirigidos a modificar la función de estos sistemas (Van de Kar, 1989; Manji, *et al.* 2001).

Hipótesis Monoaminérgica.

Una de las primeras hipótesis en ser formuladas y una de las más aceptadas en la actualidad, es la hipótesis monoaminérgica postulada durante los años 60. Schildkraut y cols. (1965), sugirieron que la depresión era debida a una deficiencia en la transmisión de monoaminas, principalmente NA y 5-HT. Esta idea se apoyaba en la evidencia de que ciertos fármacos que reducían la cantidad de estos neurotransmisores podían inducir depresión, la primera observación a este respecto fue que la reserpina, fármaco utilizado para el tratamiento de la hipertensión, el cual precipitaba el síndrome depresivo en algunos pacientes. Aunado a esto se demostró que la reserpina podía inhibir la formación de vesículas de almacenamiento de monoaminas, haciendo que tanto NA como 5-HT no pudiesen ser almacenadas para su liberación en la hendidura sináptica, sino que se mantuvieran en el citoplasma donde podían ser degradados por la monoaminoxidasa (MAO), dando como resultado una disminución de los niveles 5-HT y NA (Kandel y Schwartz, 1991).

Otra evidencia importante es que compuestos tricíclicos, los cuales bloquean la recaptura de monoaminas, e inhibidores de la MAO, que disminuyen la degradación de NA y 5-HT, pueden mejorar el estado de ánimo depresivo (Akiskal, 1995; Kandel y Schwartz, 1991).

Así también estudios que determinaron la cantidad de monoaminas y de sus metabolitos, revelaron que los pacientes depresivos víctimas de suicidio mostraron concentraciones bajas de 5-HT en el tallo cerebral y el núcleo del rafé. En el caso de sus metabolitos, se ha observado que hay niveles bajos de ácido 5-hidroxiindolacético principal metabolito de la 5-HT en pacientes con historia de depresión (Meltzer y Martin, 1987; Jans, *et al.*, 2006).

En resumen, esta hipótesis plantea que los niveles normales de neurotransmisores monoaminérgicos, se puede ver de algún modo disminuido, quizá por un proceso patológico desconocido, por estrés o por fármacos, lo que puede conducir a síntomas de depresión y los fármacos que pueden incrementar sus niveles mejoran la sintomatología de estos padecimientos (Stahl, 2002; Jans, *et al.*, 2006).

1.1.2 Neuroanatomía de la Depresión

El sistema límbico es un sistema formado por varias estructuras cerebrales que se encarga de regular las correspondientes respuestas fisiológicas ante estímulos emocionales. Está relacionado con la memoria, la atención, la conducta sexual, las emociones (por ejemplo placer, miedo, agresión), etc. El sistema límbico interactúa con el sistema endócrino y el sistema nervioso autónomo. Está formado por el tálamo, hipotálamo, hipocampo, amígdala cerebral, cuerpo calloso, séptum y mesencéfalo, las cuales reciben inervaciones de diferentes sistemas de neurotransmisión que se han vinculado con la etiología del trastorno depresivo como son: serotonina, noradrenalina y dopamina (MacQueen, *et al.*, 2003).

La depresión provoca en cambios funcionales en la neuroanatomía del cerebro. Así, daños en áreas específicas del cerebro como: lóbulo temporal e hipotálamo pueden resultar en episodios depresivos severos. Existen múltiples evidencias de que subsisten anomalías estructurales en el circuito límbico-tálamo-cortical en pacientes con depresión unipolar (MacQueen, *et al.*, 2003) algunas de las cuales se revisaran a continuación.

Núcleo del Rafé

Los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas se encuentran en nueve conglomerados, la mayoría de ellos localizados en los núcleos del rafé del mesencéfalo, protuberancia y bulbo raquídeo. Los dos grupos más importantes se encuentran en los núcleos del rafé dorsal y medial, las proyecciones de las neuronas serotoninérgicas en estos núcleos constituyen uno de los sistemas anatómicos y funcionales más complejos y extensos del cerebro de los mamíferos y su principal función es la de liberar 5-HT al sistema nervioso central, enviando sus proyecciones al tálamo, hipotálamo (núcleo supraquiasmático, ventromedial e hipotálamo posterior, área preóptica media; APOm), hipocampo, corteza cerebral y bulbo olfatorio, por mencionar algunas (Jacobs y Azmitia, 1992; Carlson, 2004). En el SNC de los mamíferos la 5-HT se encuentra implicada en la regulación de la temperatura corporal, regulación del dolor, control del vómito, ciclo sueño-vigilia, regulación del apetito, conducta sexual y secreción de hormonas (por ejemplo la secreción de hormona liberadora de corticotropina, CRH) y procesos de memoria y aprendizaje (Contreras, *et al.*, 2002). Además su actividad está regulada por diferentes sistemas de neurotransmisión, por lo que expresa receptores para noradrenalina (α_1), dopamina (D2), GABA (GABA_A y GABA_B) además de estos presenta retroalimentación negativa del propio sistema serotoninérgico, por lo que el núcleo del rafé expresa los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B/1D}. La amplia distribución del sistema serotoninérgico lo implica en numerosos procesos fisiológicos y patológicos dentro y fuera del SNC (Jacobs y Azmitia, 1992). Tanto el trastorno depresivo mayor como el comportamiento suicida se asocian con un déficit en la neurotransmisión serotoninérgica. Pacientes depresivos víctimas de suicidio presentan una disminución en la concentración 5-HT en el tallo cerebral y el núcleo del rafé, además de una disminución en los niveles de ácido 5-hidroxiindolacético principal metabolito de la 5-HT en pacientes con historia de depresión (Meltzer y Martin, 1987; Jans, *et al.* 2006). Además en tejido cerebral posmortem de pacientes deprimidos, se han observado alteraciones en receptores presinápticos y postsinápticos en corteza y tallo cerebral, incrementando los sitios de unión para el receptor 5-HT_{1A} (Welner, *et al.*, 1989; Fanelli y McMonagle-Strucko, 1992; Sibug, *et al.*, 1998; Le Poul, *et al.*, 2000; Berney, *et al.*, 2008) y 5-HT_{2A} (Underwood, *et al.*, 1999) así como, una reducción del transportador de monoaminas en corteza prefrontal (Arango, *et al.*, 1990). Aunado a estas alteraciones

del sistema serotoninérgico, se ha reportado que víctimas de suicidio presentan un incremento del 35% en la densidad y número de neuronas en el núcleo del rafe dorsal sugiriendo que este incremento se acompaña de una disminución en su capacidad funcional (Underwood, *et al.*, 1999). Al respecto Underwood y cols. (1999) proponen que quizás estos cambios sean provocados por alteraciones en el neurodesarrollo en el que los mecanismos apoptóticos normales no ocurren, así una reducida función serotoninérgica o una inervación de neuronas incompleta llevaría a cambios compensatorios como por ejemplo; una reducida tasa de muerte celular. Por otro lado, estudios realizados de forma paralela no muestran cambios morfológicos o variación en el número de neuronas (Stockmeier, *et al.*, 1998). Sin embargo, faltan más estudios sobre cambios morfométricos en el núcleo del rafe de pacientes depresivos.

Hipotálamo

El hipotálamo se localiza en la base del encéfalo, debajo del tálamo, formando parte del diencefalo. Tiene el control sobre el sistema nervioso neurovegetativo y el sistema endocrino, y organiza conductas relacionadas con la supervivencia de la especie (por ejemplo lucha, ingesta, huida y apareamiento), además de estas también regula procesos fisiológicos como; ritmos circadianos, ingesta de agua, temperatura y presión arterial (Carlson, 2004; Hernández-González y Prieto-Beracoechea, 2002). Como parte del sistema límbico el hipotálamo se encarga de la expresión conductual de las emociones (Bear, *et al.*, 2008). Se encuentra inervado por diferentes sistemas de neurotransmisión entre ellos el serotoninérgico, por lo que en el hipotálamo se expresan diferentes receptores como son 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT₇ y 5-HT_{1A} este último se puede encontrar en el hipotálamo en altas concentraciones (Jacobs y Azmitia, 1992). Algunas de las cuales se encuentran alteradas en la depresión manifestándose en síntomas depresivos como cambios en el apetito, alteraciones del sueño y disminución de la libido.

El hipotálamo libera al menos nueve hormonas que actúan como inhibidoras o estimulantes de la secreción de otras hormonas en la adenohipófisis por lo que se le ha denominado “la glándula maestra” (Carlson, 2004), entre ellas la hormona liberadora de corticotropina (CRH) que estimula la liberación de la hormona corticotrófica (ACTH) en la hipófisis y esta a su vez promueve la liberación de corticosteroides en la glándula

adrenal, constituyendo al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), el cual se activa de forma circadiana y respuesta al estrés.

El estrés psicológico tiene un rol importante en el desencadenamiento y evolución de los trastornos mentales, ya que se sabe que pacientes con depresión mayor presentan una desregulación del eje HHA (Trucco, 2002; Robinson, *et al.*, 2009). Actualmente existe evidencia clínica, epidemiológica y experimental de que el estrés en etapas tempranas del desarrollo, en conjunto con factores de predisposición genética, contribuye a generar una vulnerabilidad de largo plazo a sufrir episodios depresivos (Trucco, 2002). La CRH es liberada del hipotálamo en respuesta a la percepción de estrés por las regiones corticales del cerebro. En respuesta ante el estrés agudo la CRH actuaría mediando la respuesta endocrina a través del eje HHA. El hipocampo ejerce una influencia inhibitoria sobre las neuronas hipotalámicas que contienen CRH (Jacobson y Sapolsky, 1991), en el estrés crónico esta retroalimentación negativa se interrumpe dando como resultado respuestas mal adaptativas en el eje HHA, que incluyen una sobreactivación que se expresa en una hipersecreción de CRH y cortisol (Robinson, *et al.*, 2009).

Estudios postmortem de pacientes deprimidos revelan algunos cambios morfométricos celulares en el hipotálamo en relación a trastorno depresivo, así Purba y cols. 1996 reportan que el número de neuronas inmunoreactivas para vasopresina se incrementan en un 56%, mientras que las células inmunoreactivas para oxitocina presentan un 23% de incremento, esto en el núcleo paraventricular. Aunado a ello se presenta un incremento en el número de neuronas que expresan CRH en este núcleo hipotalámico (Raadsheer, *et al.*, 1994).

Hipocampo

El hipocampo es una de las regiones centrales del sistema límbico. Forma parte del prosencéfalo, ubicado en el lóbulo medial temporal y juega un papel primordial en las funciones ejecutivas (procesos que asocian ideas, movimientos y acciones simples y los orientan a la resolución de conductas complejas). Entre ellas, la transformación de la memoria a corto plazo en memoria a largo plazo (Meisenzahl, *et al.*, 2010). Recibe información de los sistemas colinérgico, GABAérgico, dopaminérgico, noradrenérgico y serotoninérgico. El hipocampo recibe densas inervaciones serotoninérgicas y junto

con otras áreas del sistema límbico contiene altas densidades de receptor 5-HT_{1A}, especialmente en el giro dentado y región CA3. Así como, altas densidades de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT₇ (Yau, *et al.*, 1999).

El hipocampo se encuentra relacionado con los déficits de memoria y de la regulación emocional que se presentan en la depresión. Numerosos estudios de neuroimagen funcional muestran que hay una reducción del volumen hipocampal a partir de la aparición del primer episodio depresivo mayor (Sheline, *et al.*, 1999; MacQueen, *et al.*, 2003) disminución que se mantiene en pacientes con historia de depresión. Así también se presenta una marcada asimetría en el volumen hipocampal (MacQueen, *et al.*, 2003). Esto se ve reflejado en una disminución de la memoria verbal de pacientes con episodios depresivos recurrentes (Sheline, *et al.*, 1999). Por otro lado se ha demostrado que la depresión provoca atrofia neuronal y reorganización dendrítica en el hipocampo (Cook y Wellman, 2004; Czeth, *et al.*, 2007). Consistente con estos datos el tratamiento crónico con antidepresivos induce vías de señalización neurotróficas y neurogénesis en el giro dentado del hipocampo, dicha neurogénesis hipocampal es necesaria para provocar lo efectos conductuales de fármacos antidepresivos (Malberg y Schechter, 2005).

Además, el hipocampo constituye un punto de retroalimentación negativo importante para el eje-hipotálamo-hipófisis-adrenales, y se ha reportado que el estrés puede tener importantes efectos neurotóxicos sobre el hipocampo, con pérdida neuronal y menor neurogénesis (la que se ha comprobado que persiste a lo largo de la vida en diversas especies de mamíferos). Los consecuentes déficits cognitivos, particularmente de ciertas formas de memoria, son frecuentes en pacientes depresivos (Jacobson y Sapolsky, 1991; Trucco, 2002). Aunado a ello, se han reportado diversas anormalidades en la expresión de receptores serotoninérgicos en esta área, por ejemplo; estudios posmortem de pacientes deprimidos han mostrado que existe una disminución en la expresión del ARNm para el receptor 5-HT_{1A} en hipocampo (López-Figueroa. *et al.*, 2004) En las ratas Flinders se ha reportado que existe una disminución de la expresión de la proteína para dicho receptor en giro dentado del hipocampo (Wang, *et al.*, 2009).

1.2. Sistema Serotoninérgico

La serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT) es una indolamina que originalmente fue descubierta en la sangre y el tracto gastrointestinal como una sustancia capaz de producir vasoconstricción y en general de afectar el tono muscular. Este neurotransmisor se encuentra distribuido ampliamente en órganos como los pulmones, la piel, el hígado y el SNC (Feldman, *et al.*, 1997).

En el SNC las neuronas serotoninérgicas se concentran en la parte media del tallo cerebral, agrupándose en nueve núcleos, que son conocidos como complejo nuclear del rafé. Estos núcleos envían proyecciones a prácticamente todo el sistema nervioso (ganglios basales, hipotálamo, tálamo, hipocampo, sistema límbico, corteza cerebral, cerebelo y medula espinal). A través de estas proyecciones, la 5-HT puede participar en el control de procesos como el ciclo sueño-vigilia, el estado de ánimo, las emociones, el control de la temperatura, la ingesta de alimento y la conducta sexual (Brailowsky, 1995; Bear, *et al.*, 2008).

Su síntesis depende del aporte del aminoácido triptófano proveniente de la dieta, el cual sirve como precursor para la 5-HT (Brailowsky, 1995; Stahl, 2002; Bear, *et al.*, 2008). Posteriormente el triptófano es transportado al interior de las neuronas serotoninérgicas donde es hidroxilado para formar 5-hidroxitriptofano. Esta hidroxilación es el paso limitante para la producción de 5-HT y es catalizada por la enzima triptófano hidroxilasa. Por último el 5-hidroxitriptofano sufre una rápida descarboxilación por la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (Brailowsky, 1995; Feldman, *et al.*, 1997; Bear, *et al.*, 2008).

Una vez que la 5-HT ha sido producida, es empaquetada en vesículas de almacenamiento y transportada por el axón hacia la hendidura sináptica donde el contenido de las vesículas es liberado por un proceso de exocitosis. Una vez en la hendidura sináptica la 5-HT puede unirse a sus receptores postsinápticos (Feldman, *et al.*, 1997; Bear, *et al.*, 2008).

Cumplida esta función, la 5-HT al igual que otras monoaminas (NA y DA) es metabolizada por la monoaminoxidasa y convertida a ácido 5-hidroxi-indol acético (5-HIAA). Además, en la neurona serotoninérgica también existe un sistema de recaptura, que sirve para “reciclar” la 5-HT que ya fue utilizada en la hendidura sináptica (Stahl,

2002; Bear; *et al.*, 2008). Como se mencionó anteriormente, una disminución en los niveles de este neurotransmisor puede ser causa de trastornos depresivos.

1.2.1. Receptor 5-HT_{1A}

Actualmente existen siete familias de receptores para 5-HT, que se clasifican de la 5-HT₁ a la 5-HT₇. Todas ellas excepto la familia 5-HT₃ (canal iónico dependiente de ligando) están conformadas por receptores acoplados a proteínas G (Feldman, *et al.*, 1997; Hoyer, *et al.*, 2002).

Estos receptores pueden ser presinápticos (5-HT_{1A} y 5-HT_{1B}) ubicados en las neuronas del núcleo del rapé o postsinápticos (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ y 5-HT₇) que se encuentran en células inervadas por el núcleo del rapé. Los receptores serotoninérgicos presinápticos ubicados en el núcleo del rapé son autorreceptores que detectan la presencia de 5-HT, causando la interrupción de la liberación de 5-HT y del flujo de impulsos nerviosos en la neurona serotoninérgica. Cuando la 5-HT es detectada en las dendritas y el cuerpo celular, el receptor 5-HT_{1A} (autorreceptor somatodendrítico) es activado. Una vez que se activa el receptor 5-HT_{1A} es capaz de inhibir el disparo neuronal de neuronas serotoninérgicas y de disminuir la liberación de 5-HT en la terminal axónica, a diferencia de cuando la 5-HT es detectada en la terminal axónica donde se activa el receptor 5-HT_{1D} (autorreceptor terminal). Es importante aclarar que el receptor 5-HT_{1A} también se encuentra ubicado en los cuerpos celulares de áreas cerebrales inervadas por el sistema serotoninérgico, como son: corteza, hipocampo, hipotálamo, amígdala, bulbo olfatorio, etc., y ahí cumple la misma función de regular el disparo neuronal (Carlson, 2004).

Por otro lado, los receptores postsinápticos, como los 5-HT₂ y 5-HT₃ regulan la transformación de la liberación de 5-HT de la neurona presináptica a un impulso nervioso en la neurona postsináptica (Stahl, 2002; Drevets, *et al.*, 2007).

Actualmente es ampliamente aceptado que algunos receptores como el 5-HT_{1A}, 5-HT₂ o el 5-HT₃ participan en el efecto antidepresivo de los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) como la fluoxetina (prozac), paroxetina o sertralina (Blier y Ward, 2003; Li, *et al.*, 1996; Ohno, 2010). En particular, el receptor 5-HT_{1A} ha sido propuesto como un blanco terapéutico de fármacos antidepresivos (Blier y Ward, 2003; Ohno, 2010). Múltiples estudios han mostrado que los ISRS, a largo plazo pueden promover la desensibilización o regulación a la baja del receptor 5-HT_{1A}, tanto *in vitro*

como *in vivo*, lo cual provoca un incremento en la cantidad de 5-HT liberada (Li, *et al.*, 1996; Stahl, 2002; Rausch, *et al.*, 2006; Osterlund, 2010). Una vez que estos receptores se desensibilizan, el sistema serotoninérgico no puede autorregularse y como consecuencia se continua liberando 5-HT, dando lugar al efecto terapéutico de los ISRS (Stahl, 2002; Rausch, *et al.*, 2006). Aunado a esto, existen otras evidencias de la participación de este receptor en el efecto antidepresivo de fármacos serotoninérgicos, como el hecho de que antagonistas del receptor 5-HT_{1A} como pindolol y WAY 100635 pueden facilitar la acción antidepresiva de los ISRS en estudios tanto clínicos como preclínicos (Cryan y Leonard, 2000). Más aún, algunos reportes indican que agonistas como el 8-OH-DPAT o la bupiriona producen efecto antidepresivo en algunos modelos animales de depresión como la prueba de nado forzado (PNF), disminuyendo la inmovilidad e incrementando la conducta de nado (Lucki, *et al.*, 1994; Martinez-Mota, *et al.*, 2002). Acorde con lo anterior se ha demostrado que la administración de ISRS como fluoxetina o paroxetina no reducen la inmovilidad en ratones *knock out* (KO) para el receptor 5-HT_{1A} (Mayorga, *et al.*, 2001), indicando que dicho receptor es necesario para la actividad antidepresiva de los ISRS.

Además, se ha encontrado que el número y expresión del ARNm para los de receptores 5-HT_{1A} se encuentra alterado en el núcleo ventrolateral de hipotálamo (Anisman, *et al.*, 2008) y en los núcleos del rafé dorsal y ventrolateral (Stockmeier, *et al.*, 1999; Boldrini, *et al.*, 2008;), corteza frontal, hipotálamo y amígdala (Osterlund, *et al.*, 1999; Shayit, *et al.*, 2003; Drevets, *et al.*, 2000; Drevets, *et al.*, 2007) de pacientes deprimidos víctimas de suicidio, así como, en modelos animales de depresión, como las ratas Flinders (Osterlund, *et al.* 1999; Nishi, *et al.*, 2009) y en ratas macho castrados (Fischette, *et al.*, 1983), sugiriendo que la alteración en estos receptores, altera también la cantidad de 5-HT en la hendidura sináptica.

1.3. Estrógenos

Los estrógenos constituyen un grupo de hormonas esteroides que dan lugar al fenotipo femenino en la etapa adulta al estimular el desarrollo de las características sexuales secundarias. Además en forma conjunta con la progesterona, los estrógenos aseguran la función gametogénica del ovario, lo cual le confiere un papel esencial en la función reproductora de los mamíferos. Pueden ser sintetizados *de novo* en los ovarios y

en el varón son producto de la aromatización de la testosterona, principalmente en el testículo, aunque también se producen en tejidos periféricos a partir de precursores esteroideos que circulan en la sangre, dichos tejidos incluyen la piel, el hígado, la placenta, tejido mamario y adiposo, así como en distintas áreas cerebrales: el área preóptica media, el hipotálamo y la amígdala tanto en machos como en hembras (Cabeza-Salinas, 2006). En la mujer su producción varía cíclicamente, siendo máxima en la fase preovulatoria y mínima en el período premenstrual. Tradicionalmente se ha considerado que la función reproductiva del macho es controlada por hormonas androgénicas como la testosterona, sin embargo; recientes estudios han demostrado que los estrógenos son necesarios para la diferenciación sexual, correcto funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, espermatogénesis y despliegue de conducta sexual (Rochira, *et al.*, 2005). Además, los estrógenos regulan múltiples mecanismos como por ejemplo, el desarrollo de características sexuales secundarias, regulación de la temperatura; metabolismo de lípidos, carbohidratos y lipoproteínas; fenómenos de coagulación, así como la regulación de un amplio rango de comportamientos entre los que se encuentran la conducta sexual y maternal, la cognición, mejoramiento del aprendizaje y la memoria y modulación del estado de ánimo (Cabeza-Salinas, 2006).

Los estrógenos al igual que otras hormonas esteroideas viajan a través del torrente sanguíneo unidos a proteínas transportadoras, como la albúmina o la *globulina transportadora de esteroideas sexuales* (SHBG). Este fenómeno se debe a que los esteroideos son insolubles en la parte acuosa de la sangre. Sólo una mínima parte, aproximadamente 1% se encuentra libre y esta es la porción llamada activa, ya que puede atravesar la membrana plasmática, gracias a que tienen la propiedad de ser liposolubles, o en su defecto interaccionar con receptores de membrana (Cabeza-Salinas, 2006). Es necesario mencionar que los efectos de los estrógenos están mediados por acciones genómicas y no genómicas.

A) Acciones Genómicas

Las acciones genómicas se llevan a cabo a través de la activación de receptores intracelulares. La activación de estos receptores tradicionalmente ha sido implicada en la regulación de procesos transcripcionales, que toman algunas horas de duración, por lo que han sido llamados efectos a largo plazo. Los receptores a estrógenos (RE) pertenecen a la superfamilia de receptores de esteroideos y hormonas tiroideas. Existen 2

isoformas codificadas por 2 genes diferentes las cuales poseen 44 % de similitud en su secuencia de aminoácidos, estos son denominados RE- α y RE- β (Delaunay, *et al.*, 2000; Zhao, *et al.*, 2010). El RE- α es el tipo más ampliamente distribuido en el SNC, mientras que RE- β se encuentra principalmente en el tracto reproductivo (McEwen, 1999).

Los receptores a estrógenos han sido identificados en múltiples regiones cerebrales, especialmente en áreas del sistema límbico, el cual gestiona respuestas fisiológicas ante estímulos emocionales y se relaciona con memoria, atención, conducta sexual y estado de ánimo. En particular el receptor RE- α muestra una expresión moderada en hipocampo tanto en machos como hembras, mientras que se encuentran en alta densidad en hipotálamo, especialmente en la zona periventricular incluyendo el área preóptica media, núcleo supraquiasmático y núcleo arcuato. Además se encuentra altamente expresado en tallo cerebral incluyendo núcleo del rafé (McEwen y Alves, 1999; Laflamme, *et al.*, 1998; Mize, 2001). En el caso de los RE- β se expresa en bajos niveles en SNC, sin embargo; se encuentra altamente expresado en áreas límbicas como el hipotálamo, en especial en el núcleo paraventricular, mientras que en hipocampo y núcleo del rafé dicha expresión es moderada (Laflamme, *et al.*, 1998). Aunque se ha demostrado que ambos pueden expresarse en los mismos tejidos, en algunos casos en niveles similares y en otros, uno de los dos receptores predomina sobre el otro (Dahlman-Wright, *et al.*, 2006).

Una vez dentro de la célula las hormonas esteroides se unen a sus receptores los cuales se encuentran ya sea en el citoplasma o en el núcleo provocando un cambio conformacional por parte del receptor seguido de la separación de su proteína chaperona, en este caso una proteína de choque térmico (Hsp90), permitiendo la formación de un dímero con otro complejo hormona-receptor que es capaz de interactuar con el ADN, uniéndose a una región consenso del promotor llamada elemento de respuesta a estrógenos (ERE) y haciendo que codifique un nuevo ARNm responsable de la síntesis de las proteínas que producirán efectos fisiológicos (McEwen, 1991; Simoncini y Genazzani, 2003; Zhao, *et al.*, 2010).

B) Acciones No-genómicas

Existen evidencias de los efectos rápidos o no-genómicos de los estrógenos los cuales se pueden observar luego de algunos segundos o minutos. Estas evidencias se ven respaldadas gracias a que las acciones de los esteroides pueden ser reproducidas en

presencia de hormonas unidas a moléculas que no son capaces de atravesar la membrana plasmática, las hormonas esteroides tienen efecto en células donde la cromatina se encuentra altamente compactada y estas acciones se producen aún en células que contienen mutaciones en los RE que los hacen incapaces de activar procesos transcripcionales (Simoncini y Genazzani, 2003). En cuanto a las acciones de los estrógenos se sabe que el 17β -estradiol (E_2) ha sido involucrado en la regulación de canales iónicos, receptores acoplados a proteínas G (GPCRs), tirosin-cinasas y protein cinasas activadas por mitogeno (MAPKs), aunque también han sido implicados en la producción de adenilatociclasa y la activación de fosfolipasa C (PLC), provocando la fosforilación de algunas proteínas y una rápida activación de enzimas que modulan funciones celulares (McEwen, 1991; McEwen y Alves, 1999; Simoncini y Genazzani, 2003; Raz, *et al.*, 2008).

1.3.1. Estrógenos y Depresión

Múltiples estudios reportan una mayor incidencia y vulnerabilidad a presentar estados depresivos en las mujeres que cursan fluctuaciones en los niveles de estrógenos presentes a lo largo de la vida como en el síndrome premenstrual, posparto y en la menopausia (Arpels, 1996; Stahl, 1998; Cutter, *et al.*, 2003; Payne, 2003). En mujeres perimenopáusicas que sufren depresión, se ha observado una mejoría notable en los síntomas depresivos cuando han sido tratadas con una terapia de reemplazo hormonal junto con la terapia antidepresiva convencional con los ISRSs (Schneider, *et al.*, 1997; Soares, *et al.*, 2001; Cutter, *et al.*, 2003), por ello en los últimos años se ha intensificado la investigación para descifrar la relación que guardan los niveles estrogénicos con los trastornos depresivos.

En modelos animales de depresión compuestos estrogénicos como el E_2 y el etinil-estradiol (EE_2) han mostrado efecto antidepresivo en la prueba de nado forzado (PNF) en rata, reduciendo significativamente la conducta de inmovilidad e incrementando el nado y el escalamiento respectivamente, además acortan la latencia del efecto antidepresivo al ser co-administrados con diferentes fármacos antidepresivos tanto en machos como en hembras (Estrada-Camarena, *et al.*, 2003; Estrada-Camarena, *et al.*, 2004; Estrada-Camarena, *et al.*, 2008; Sell, *et al.*, 2008; Bonilla-Jaime, *et al.*, 2010a). Los estrógenos pueden ser producidos en varias áreas cerebrales y ejercen un

amplio rango de acciones en diferentes sistemas de neurotransmisión incluyendo al noradrenérgico, dopaminérgico, GABAérgico y serotoninérgico (McEwen, 1991; Osterlund, 2010). Múltiples estudios sugieren que los estrógenos pueden alterar el riesgo de sufrir depresión mediante la alteración en la función serotoninérgica. Se sabe, por ejemplo que puede interactuar con algunos receptores serotoninérgicos como el 5-HT_{1A} o el 5-HT_{2A} (Blier, 2001) ambos blancos importantes de antidepresivos.

1.4. *Conducta Sexual Masculina (CSM)*

El estudio de la conducta sexual en roedores ha permitido incrementar el conocimiento acerca de sus bases biológicas, neurales, hormonales y anatómicas. Así como, las interacciones de diferentes tipos de hormonas, neurotransmisores y fármacos (Pfaus, *et al.*, 2003). La conducta sexual de la rata macho consiste de diferentes patrones motores innatos y altamente estereotipados. Estos pueden distinguirse fácilmente en tres conductas: monta, intromisión y eyaculación. Una monta consiste en el abordaje de la hembra, por parte del macho, por la parte posterior, sujeta y palpa sus flancos con las patas delanteras y realiza movimientos rítmicos alternantes pero sin inserción peneana terminando con una desmonta lenta (Figura 1). La intromisión se inicia como una monta, pero la serie de movimientos pélvicos termina con un movimiento pélvico profundo hacia delante acompañado de la inserción peneana intravaginal, seguido de una desmonta brusca y dos o tres pasos hacia atrás como se muestra en la Figura 1. Después de una serie de montas e intromisiones el macho presenta la conducta de eyaculación la cual puede definirse como una expulsión enérgica del semen del macho, la cual puede visualizarse como la culminación de un empuje intravaginal vigoroso acompañado del arqueado de la columna vertebral del macho con un levantamiento de las patas delanteras y flexiones repetidas de los cuartos traseros. Finalmente inicia la conducta de acicalamiento genital. Después de la eyaculación y el acicalamiento genital, el macho permanece insensible a la estimulación sexual y deja de interesarse por la hembra. A este periodo se le ha denominado posteyaculatorio o refractario y termina cuando el macho reasume la actividad copulatoria. Este periodo dura alrededor de 5 minutos después de los cuales se reinicia la actividad copulatoria (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006; Hull, *et al.*, 2006).

MONTA



INTROMISION



EYACULACION

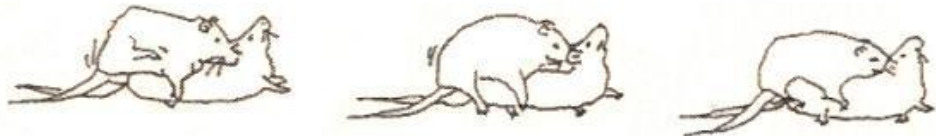


Figura 1. Patrones conductuales mostrados por la rata durante la ejecución sexual. Tomado de: Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006.

En la prueba de conducta sexual masculina se introduce a una pareja de roedores en un cilindro de acrílico, el macho comienza a investigar a la hembra olfateándola y después de unos momentos trata de montarla, si la hembra esta receptiva mostrará la conducta de lordosis para exponer su vagina y facilitar la intromisión (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006; Hull, *et al.*, 2006).

A la serie de eventos conductuales que se presentan desde la primera monta hasta la eyaculación se denomina serie eyaculatoria. El análisis de esta prueba se realiza evaluando un grupo estandarizado de medidas conductuales, los cuales podemos enlistar como sigue:

1. Latencia de monta: tiempo transcurrido entre la introducción de la pareja de roedores hasta que se presenta la primera monta. Es considerada como una conducta precopulatoria e indicador del estado motivacional del individuo (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).
2. Latencia de intromisión: tiempo transcurrido desde que la hembra y el macho entran en contacto hasta la primera intromisión. Al igual que la latencia de monta indica que tan motivado se encuentra el macho, así tenemos que un incremento de este parámetro indica un deterioro de la conducta sexual masculina mientras que, la disminución de este aspecto nos habla de una estimulación (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).
3. Latencia de eyaculación: tiempo transcurrido desde la primera intromisión hasta la primera eyaculación. Indicador del componente ejecutorio. Un incremento de la latencia de eyaculación muestra un deterioro de la CSM (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).
4. Intervalo posteyaculatorio o periodo refractario: tiempo transcurrido entre una eyaculación y el reinicio de la actividad copulatoria, dada por una monta o una intromisión. Una disminución en el periodo refractario refleja una mayor motivación del individuo (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).
5. Número de montas: número de veces que se presenta una monta en una serie eyaculatoria (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).
6. Número de intromisiones: número de veces que se presenta una intromisión en una serie eyaculatoria (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).
7. Frecuencia de eyaculación: número de eyaculaciones que se presentan durante el tiempo total de la prueba. Es un indicador de la potencia o ejecución, un incremento en la frecuencia de eyaculación muestra un efecto estimulador de la misma (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).
8. Hit rate o tasa de aciertos: corresponde al número de intromisiones dividido entre el número de intromisiones más el número de montas que se presentan antes de una eyaculación. Indica la eficiencia copulatoria, entre más cercano se encuentre a 1 indica una copula más eficiente por parte del macho (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006).

Esta conducta está controlada por diferentes vías tanto endocrinas como neuroquímicas (Moralí, 1998), sobre los que se ahondará a continuación.

1.4.1. Aspectos Neuroendocrinos de la CSM

Las hormonas gonadales regulan la expresión de conductas reproductivas, especialmente en áreas neuroanatómicas involucradas en la regulación de la CSM. Así se sabe, que el núcleo ventromedial del hipotálamo (VHM), el área preóptica media (APOm), el núcleo de la amígdala media (NAM) y el lecho de la estría terminal, son órganos blanco de hormonas gonadales, estructuras que a su vez son esenciales para que se propicien las respuestas copulatorias en el macho (Blaustein, 1992; Hull, *et al.*, 2006).

La CSM depende de la interacción de al menos dos componentes: uno motivacional que lleva al individuo a la búsqueda y al inicio de la interacción con la pareja y un componente consumatorio o de ejecución que le permite llevar a cabo dicha interacción (Moralí, 1998; Hull, *et al.*, 2006). Ambos componentes requieren de una compleja regulación hormonal, en el caso del macho depende de hormonas testiculares, en especial de testosterona (T) producida por las células de Leydig en los testículos que se metaboliza en sus células blanco a E₂ (por aromatización) o DHT (por 5 α -reducción) y al variar los niveles circulantes de estas hormonas puede modificar la expresión de estos componentes (Moralí, 1998; Hull y Domínguez, 2007).

En este sentido, la castración en mamíferos suprime en forma gradual la expresión de la CSM en un lapso de días o semanas, a pesar de que la T deja de detectarse en plasma aproximadamente después de 24 horas. Se sabe que la administración de T es capaz de restituir la capacidad de los machos para la monta, inserción peneana y eyaculación (Krey y McGinnis, 1990; Hull, *et al.*, 2006). La DHT se considera el metabolito activo de la T en tejidos periféricos sensibles a andrógenos como la próstata, sin embargo múltiples estudios muestran que resulta inefectiva para estimular la CSM si no se administra en compañía de metabolitos aromatizables (Vagell y McGinnis, 1997; Hull, *et al.*, 2006). Por otra parte, la administración de E₂, andrógenos aromatizables (androstendiona y androstendiol) y andrógenos que pueden interaccionar con receptores a estrógenos como el 5 α -3 β androstendiol, los cuales son capaces de restituir la conducta sexual de la rata macho castrada (Moralí, 1998). Hechos sobre los cuales se sustenta la teoría de la aromatización, que propone la importancia de la aromatización de los andrógenos o la participación de metabolitos estrogénicos, en el mecanismo de acción de los andrógenos sobre la CSM. De hecho, las acciones de la

testosterona sobre esta conducta pueden ser interferidas por la administración de inhibidores de la aromatasas, por lo que se ha propuesto que las hormonas estrogénicas juegan un papel fundamental en la expresión de esta conducta (Moralí, *et al.*, 1977). El tratamiento con E₂ tanto subagudo (24-72 horas antes) como agudo (15- 30 min antes) a ratas castradas sexualmente expertas puede incrementar el número de montas y disminuir la latencia de eyaculación, confirmando que su acción está mediada inicialmente por mecanismos no genómicos (Cross y Roselli, 2007). Por otro lado, algunos trabajos reportan que el tratamiento con E₂ únicamente puede restablecer parcialmente la conducta copulatoria (no restablece el patrón de eyaculación), por lo que podría ser necesaria la metabolización de testosterona a DHT para mantener las funciones motoras y sensoriales en tejidos periféricos (Hull, *et al.*, 2006).

Otra evidencia que soporta la teoría de la aromatización es el hecho de que se ha demostrado la presencia de aromatasas en axones y botones sinápticos, sugiriendo que el estradiol formado localmente puede actuar a nivel sináptico (Naftolin, *et al.*, 1996). Algunas investigaciones muestran que la conducta sexual se ve disminuida, pero no totalmente eliminada en ratones KO para receptores a estrógenos (Rissman, *et al.*, 1997; Hull, *et al.*, 2006), además, se ha propuesto que el estradiol podría estar actuando por mecanismos no genómicos, ya que se han encontrado sitios de unión de E₂ en membranas de células neurales (Ramírez y Zheng, 1996).

1.5. Modelos Animales de Depresión

Un modelo animal se define como una preparación experimental desarrollada en una especie para estudiar patologías humanas o condiciones fisiológicas de estudio. Los modelos de psicopatologías humanas buscan desarrollar síndromes en animales que reflejen en uno o varios componentes de síndromes humanos, aunque los modelos pueden no reflejar todos los aspectos de la psicopatología. Así, un modelo animal puede simular sólo alguno de ellos como; etiología, síntomas o respuesta a tratamientos. Para lograr esto se requiere que el modelo incluya una variable susceptible de ser medida. En el desarrollo de modelos de trastornos del afecto, la amplia gama de síntomas y el hecho de que muchos de ellos como las ideaciones de muerte, pensamientos suicidas y los sentimientos de culpa sean imposibles de modelar han hecho difícil la tarea de crear modelos que permitan el estudio de estos trastornos. Por lo cual se han creado algunos

criterios para evaluarlos. Entre los que encontramos: 1) que el modelo sea “razonablemente análogo” en sus manifestaciones y sintomatología, 2) que sus cambios conductuales puedan ser evaluados objetivamente, 3) los cambios conductuales observados puedan ser revertidos por los mismos tratamiento que en humanos y 4) que este puede ser reproducido en el laboratorio (Geyer y Markou, 1995; Cryan, *et al.*, 2002; Duman, 2010).

Existe una clasificación para evaluar diferentes tipos de modelos conductuales estos son: bioensayos (se utilizan para estudiar la función cerebral), simulaciones (investigan procesos psicológicos) y pruebas de tamizado o cernimiento (que ayudan a determinar la posible acción antidepresiva de múltiples de compuestos) (Willner, 1991). Los bioensayos conductuales permiten analizar la correcta función del sistema fisiológico, y ayudan a estudiar los posibles mecanismos de los cambios en la función cerebral resultado de la administración de drogas, lesiones en SNC u otras manipulaciones experimentales. Las simulaciones permiten, imitar un síntoma o un conjunto de síntomas. Las pruebas de cernimiento investigan nuevos fármacos y se basan en la acción de drogas conocidas para desarrollar nuevos fármacos identificando agentes que tienen un tipo de acción clínica como en este caso antidepresivos. Al mismo tiempo pueden identificar la acción bioquímica de drogas, para el desarrollo de nuevos fármacos (Willner, 1991).

Por otro lado, en la evaluación de modelos animales de depresión se toman en cuenta tres criterios los cuales les otorgan diferente grado de utilidad. Estos son: validez predictiva, la validez teórica y la validez de apariencia. Aplicado a la depresión, la validez teórica se refiere a la congruencia que existe entre un modelo y alguna de las teorías existentes sobre el origen de la depresión. Por su parte, la validez predictiva es la capacidad del modelo para detectar fármacos con eficacia terapéutica; es decir, que el modelo permita identificar nuevos agentes farmacológicos y correlacionar la potencia de tales sustancias en el modelo con su posible potencia clínica, sin producir errores como falsos positivos o falsos negativos. Por último, la validez de apariencia se refiere a la similitud entre los signos del cuadro depresivo en humanos y los presentados por el modelo (Willner, 1991; Willner y Mitchell, 2002).

Los modelos animales de depresión pueden ser clasificados también de acuerdo a su origen. De tal modo se puede encontrar un gran número de modelos que son generados por condiciones estresantes que son capaces de dar lugar a condiciones semejantes a la depresión (Katz, 1982). Algunos otros son inducidos por tratamiento

farmacológico, dentro de los que se encuentra el modelo generado por el tratamiento neonatal con antidepresivos que origina un estado depresivo en la edad adulta (Vogel, *et al.*, 1990a).

1.5.1. Prueba de Nado Forzado.

A medida que ha avanzado la investigación múltiples procedimientos experimentales han sido desarrollados para evaluar y predecir actividad antidepresiva de diferentes fármacos y para emular diferentes síntomas de la depresión. En el modelo de desamparo conductual, la prueba de nado forzado (PNF) se ha considerado como una prueba validada en roedores para investigar fármacos con potencial antidepresivo en pruebas preclínicas (Cryan, *et al.*, 2002; Duman, 2010). Esta prueba fue desarrollada por Roger Porsolt y cols. (1977 y 1979) en la década de los setenta y está basada en la observación de ratas colocadas, generalmente sin ningún tratamiento, en un cilindro de vidrio lleno con agua hasta una altura de 15 cm durante 15 minutos. En los primeros momentos se presenta una actividad exploratoria orientada al escape en la que la rata nada de forma vigorosa, pero después de algunos minutos esta actividad cesa y la rata adopta una posición característica: se mantiene erguida sobre patas y cola con la cabeza apenas fuera del agua, a la cual se le ha denominado inmovilidad (Porsolt, *et al.*, 1977; 1979). Este método fue modificado posteriormente por Lucki y cols. (Detke, *et al.*, 1995; Lucki, 1997), en un esfuerzo por incrementar la sensibilidad de la prueba clásica con el fin de evitar falsos positivos. Estas modificaciones incluyen la evaluación de conductas activas como nado y escalamiento. El procedimiento se lleva a cabo colocando a la rata en un cilindro de vidrio vertical con un diámetro de 20 cm y 40 cm de altura conteniendo agua a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ con una profundidad de 30 cm, en este caso la profundidad, a diferencia del procedimiento original, no permite que el animal apoye sus patas en el fondo pero ocasionalmente puede apoyar la cola, evitando así la ocurrencia de falsos positivos existente en la versión original (Detke, *et al.*, 1995; Lucki, 1997).

El tiempo de inmovilidad es la variable cuantificable; debido a que se ve disminuida por la administración de medicamentos antidepresivos, constituyendo así una de las pruebas de cernimiento más utilizadas, también gracias a que es fácilmente repetible bajo condiciones de laboratorio. Esta prueba es sensible a la mayoría de antidepresivos incluyendo a los tricíclicos (por ejemplo, imipramina y desimipramina),

IMAOs (por ejemplo, tranilcipromina y clorgilina), ISRSs (por ejemplo, fluoxetina) y algunos atípicos (por ejemplo, bupropion) (Detke, *et al.*, 1995; Duman, 2010). La evaluación de conductas activas, tanto nado como escalamiento, aunado a la disminución de la conducta de inmovilidad, ofrece otra ventaja de esta modificación sobre la prueba tradicional permite determinar de acuerdo con el patrón de expresión, el posible mecanismo por el que diferentes antidepresivos producen su efecto. Así, fármacos que incrementan la actividad noradrenérgica, como los inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (desipramina, reboxetina y maprotilina), disminuyen la conducta de inmovilidad con un correspondiente incremento de la conducta de escalamiento (Figura 2). Por otro lado, los fármacos que incrementan la actividad serotoninérgica, como los ISRS (fluoxetina, sertralina y paroxetina), disminuyen la conducta de inmovilidad incrementando selectivamente la conducta de nado (Figura 2). Además, un incremento en la inmovilidad y una disminución de las conductas activas han sido consideradas como un indicativo del estado depresivo del roedor (Detke, *et al.*, 1995; Lopez-Rubalcava y Lucki, 2000; Duman, 2010).

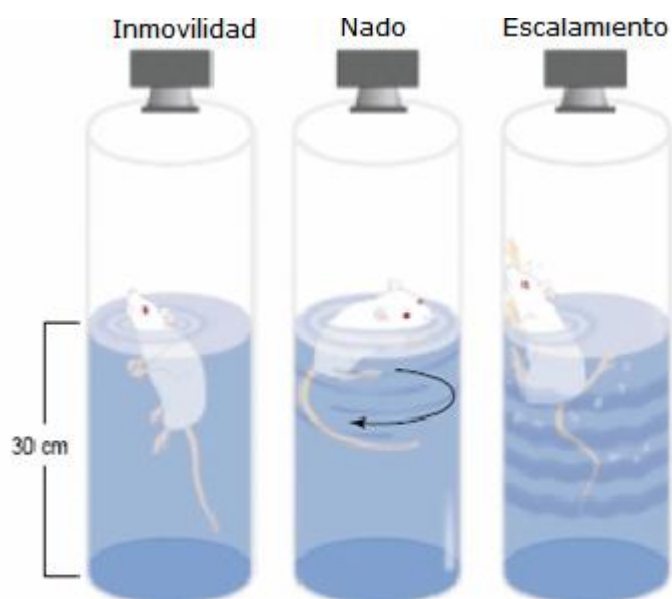


Figura 2. Ratas sometidas a la PNF modificada para poder evaluar conductas activas. Se muestran las tres conductas evaluadas durante la prueba: inmovilidad, nado y escalamiento. Modificado de: Cryan, *et al.*, 2002

La PNF muestra similitud con la prueba de desamparo aprendido en cuanto a la incapacidad del individuo de escapar de situaciones estresantes, dicho de otro modo el individuo es sometido a una situación de estrés intenso en la que el animal “aprende”

que no hay escapatoria posible a esta condición, de modo que después de un tiempo deje de intentar escapar de dicho estrés. Gracias a estudios más recientes han sido sugeridas otras relaciones conductuales que le dan sustento teórico a este y otros modelos animales de depresión. Los síntomas psicopatológicos de la depresión pueden estar relacionados con la activación de mecanismos de defensa para responder a la amenaza y la pérdida de control (inmovilidad), estos mecanismos pueden volverse patológicos cuando son activados con facilidad o cuando se prolongan y son interrumpidos pero no expresados (“arrested”) o cuando son inefectivos (conductas activas). De este modo, la inmovilidad conductual en la prueba es un mecanismo de defensa que libera a la rata del estrés del nado forzado y que le permite alternar la inmovilidad con conductas de escape activo, como parte del estrategia para enfrentar el estrés o como reflejo de un estado específico del repertorio defensivo de los mamíferos conocido como interrupción del escape, que implica que suprima conductas exploratorias, para intentar huir de la situación de estrés (nado y escalamiento), y la adopción de posturas estáticas (inmovilidad), que dan protección y permiten la vigilancia del medio que lo rodea. En este contexto, para los humanos la interrupción del escape o de la posibilidad de escapar, se ha ligado al suicidio. Así, las bases teóricas de la inmovilidad conductual en la PNF están relacionadas con las variaciones en la depresión conductual inducida por el estrés como reflejo de conductas defensivas, como la interrupción del escape y el entrapamiento, observados en pacientes con depresión (Dixon, 1998; Vázquez-Palacios, 2004; Ver para revisión: Vázquez-Palacios, *et al.*, 2009).

1.5.2. Modelo de Depresión Inducido Neonatalmente por Clomipramina

Este modelo tiene sus antecedentes en trabajos realizados por Mirmiran y cols. (1981). En este se analiza el papel del sueño activo o sueño de movimientos oculares rápidos (sMOR) en la maduración cerebral de la rata y su conducta en la edad adulta, para lo cual se priva a ratas neonatas de sMOR mediante la administración neonatal de clomipramina (CLI) un fármaco antidepresivo inhibidor de la recaptura de monoaminas y poderoso supresor de sMOR. En la edad adulta, estas ratas muestran una reducción de la conducta sexual masculina (Neill, *et al.*, 1990; Vogel, *et al.*, 1996; Bonilla-Jaime, *et al.*, 1998; Bonilla-Jaime; *et al.*, 2003b), disminución en la búsqueda de conductas de recompensa (Vogel, *et al.*, 1990c), incremento en la actividad motora, una mayor

latencia de sMOR (Vogel, *et al.*, 1975; Vogel y Vogel, 1982; Vogel, *et al.*, 1990a, 1990b, 1990d; Feng y Ma, 2002), además de una hipersecreción de corticosterona (Bonilla-Jaime, *et al.*, 2010b). Estas anormalidades semejan algunos de los síntomas de la depresión humana, como por ejemplo; disminución de la libido, anhedonia y alteraciones en el patrón de sMOR. Además, las ratas CLI presentan incremento en el tiempo de inmovilidad en la PNF, tanto en la de 15 minutos como la de 5 minutos (Velázquez-Moctezuma y Díaz-Ruiz, 1992).

Todo esto sugiere que este podría ser un modelo de depresión (Vogel y Vogel, 1982) con gran validez de apariencia al reproducir varios de los signos del cuadro depresivo humano, los cuales también que se pueden revertir con la administración de antidepresivos o terapias conductuales como la privación del sMOR (Vogel, *et al.*, 1990b). Se ha propuesto que las anormalidades conductuales de este modelo son inducidas sobre la maduración cerebral por cambios a largo plazo en la función de los neurotransmisores monoaminérgicos, así como por su interacción con otros sistemas de neurotransmisión (Bonilla-Jaime, *et al.*, 2008). La CLI y su metabolito desmetilado son inhibidores de la recaptura de 5-HT y NA, neurotransmisores que parecen tener un papel importante en el neurodesarrollo. Diferentes estudios han mostrado que manipulaciones farmacológicas realizadas en el cerebro inmaduro pueden producir cambios permanentes en el contenido de neurotransmisores o en la cantidad de receptores de estos en el cerebro maduro (Vijayakumar y Meti, 1999; Whitaker-Azmitia, 1991). Así, diversos estudios han mostrado que en este modelo existen alteraciones neuroquímicas; tales como una disminución en los niveles hipotalámicos de 5-HT (Feenstra, *et al.*, 1996). Además, se ha reportado que los niveles de 5-HT y NA se encuentran disminuidos en la corteza frontal, hipocampo, tallo cerebral, hipotálamo y septum (Vijayakumar y Meti, 1999). Por otro lado, en este modelo también se ha demostrado un decremento en la tasa de disparo neuronal en el núcleo del raquí dorsal que podría ser causado por un probable incremento en la activación o número de receptores 5-HT_{1A} ya que la activación de este receptor da como resultado una inhibición del disparo neuronal en el núcleo de raquí y una disminución en los niveles de 5-HT (Kinney, *et al.*, 1997).

Estas alteraciones en los sistemas NA y 5-HT así como en las interacciones con otros sistemas de neurotransmisión se han relacionado con la etiología de la depresión y con alteraciones conductuales, particularmente de la conducta sexual masculina (CSM). La CSM en la rata es controlada por aspectos neurales y neuroendocrinos (Hull y

Domínguez, 2007), dentro de estos últimos se encuentran hormonas como la testosterona. Sin embargo, este modelo, investigaciones recientes han mostrado que no existen cambios en los niveles plasmáticos de testosterona (Bonilla-Jaime, *et al.*, 2003a; 2003b), indicando que posiblemente sean otros componentes los que se encuentren alterados en el despliegue de esta conducta.

2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la depresión constituye un grave problema de salud pública, por ello resulta de suma importancia el estudio de las bases neurobiológicas de este padecimiento, permitiendo proponer nuevas estrategias para su tratamiento. El modelo de depresión inducido por el tratamiento neonatal con CLI presenta grandes similitudes con la sintomatología de la depresión endógena en humanos, como son alteraciones del sueño MOR, disminución en la búsqueda de conductas recompensantes, incremento en la actividad motora, además de una hipersecreción de corticosterona. Estas alteraciones en las ratas tratadas neonatalmente con CLI han sido atribuidas a deficiencias en sistemas de neurotransmisión tales como; el sistema noradrenérgico y el sistema colinérgico sistemas que se encuentran alterados en pacientes con depresión.

Se sabe que el tratamiento neonatal con CLI genera alteraciones específicamente sobre el sistema serotoninérgico al disminuir la concentración de 5-HT en áreas como el septum y el hipocampo y un incremento en la tasa de disparo neuronal en núcleo del raqué dorsal, indicando una posible alteración en el receptor 5-HT_{1A}. El receptor 5-HT_{1A} se encuentra en el soma de la neurona tanto en el raqué como en sus proyecciones (corteza, hipotálamo, hipocampo, bulbo olfatorio y amígdala) y cuando es activado inhibe el disparo neuronal y la liberación de 5-HT. Por otro lado se sabe que constituye un importante blanco de fármacos antidepresivos, ya que ISRS pueden desensibilizarlo y de este modo ejercer su efecto terapéutico. Además, se encuentra sobre expresado en pacientes deprimidos víctimas de suicidio y en algunos modelos de depresión.

Por otro lado, las ratas tratadas neonatalmente con CLI presentan un deterioro de la conducta sexual masculina (CSM), conducta que es regulada tanto por neurotransmisores como por hormonas como la testosterona. Sin embargo, los niveles de esta hormona en ratas tratadas con CLI no se ven alterados. La testosterona se metaboliza a dihidrotestosterona (DHT) encargada de mantener la integridad de órganos periféricos y 17- β estradiol (E₂) responsable de los efectos centrales de la testosterona sobre la conducta copulatoria. Además, se sabe que hormonas estrogénicas pueden regular múltiples procesos fisiológicos en la depresión.

Por todo lo anterior resulta de gran interés el análisis del estado del receptor 5-HT_{1A} y 17 β - estradiol (E₂) por medio de pruebas conductuales como la prueba de nado forzado (PNF) y el análisis de la conducta sexual masculina (CSM) a ratas tratadas

neonatalmente con CLI, con la finalidad de esclarecer la participación del receptor 5-HT_{1A} y E₂ en las alteraciones conductuales que presenta el modelo. Además determinar el efecto del tratamiento neonatal con CLI sobre la expresión del receptor 5-HT_{1A} en el núcleo del rafe, hipotálamo e hipocampo.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el estado del receptor 5-HT_{1A}, y del E₂ en un modelo animal de depresión, así como la participación de ambos componentes en sus alteraciones conductuales.

3.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la función del receptor 5-HT_{1A} en la prueba de nado forzado por medio de la administración de un agonista (8OH-DPAT) en ratas tratadas neonatalmente con clomipramina.
- Determinar el efecto del tratamiento neonatal con clomipramina sobre la expresión del receptor 5-HT_{1A} en el núcleo del rafe, hipotálamo e hipocampo.
- Evaluar la administración de E₂ y la combinación de esta hormona con DHT sobre los patrones normales de expresión de la conducta sexual en ratas castradas tratadas neonatalmente con clomipramina.

4. HIPÓTESIS

Si el tratamiento neonatal con CLI modifica la acción del E₂ en el sistema nervioso y la expresión del receptor 5-HT_{1A}, entonces la administración de E₂ y de 8-OH-DPAT no serán capaces de restituir la CSM alterada, ni de disminuir la inmovilidad en la PNF respectivamente.

5. METODOLOGÍA

5.1. *Modelo animal de depresión neonatalmente inducido por clomipramina*

Se utilizaron 40 ratas de la cepa Wistar hembras, de tres meses de edad, con un peso promedio de 300 g., cada una fue colocada en presencia de un macho sexualmente experto permitiéndoles la cópula hasta que los machos alcanzaran dos eyaculaciones como mínimo. A este día se le tomo como día 0 de gestación, posteriormente cada una fue separada en una caja individual mantenidas en ciclos invertidos de 12: 12 horas de luz-oscuridad (luz de 20:00 a 8:00 horas) a una temperatura constante (24 °C) y con libre acceso a comida y agua. Tres días después del nacimiento, los machos de las camadas fueron mezclados y se colocó un número igual de crías con cada hembra nodriza (n=6), mientras que las crías hembras fueron sacrificadas.

Del día 8 al 21 de vida posnatal las crías fueron divididas en dos grupos: grupo control (0.1 ml de solución salina; CON) y grupo experimental (15 mg/kg de clorhidrato de CLI en un volumen de 0.1 ml). A cada grupo se le aplicó una inyección dos veces al día (8:00 y 18:00 hrs). A los 25 días de edad los neonatos macho fueron separados de sus madres y divididos en grupos (n=6), mientras que las hembras fueron eliminadas del experimento. Una vez cumplidos los tres meses de edad tanto los machos control como experimentales fueron sometidos a los siguientes experimentos.

- 1) Evaluación farmacológica de la función del receptor 5-HT_{1A} en la PNF
- 2) Evaluación de la administración de E₂ sobre la CSM
- 3) Evaluación de la expresión del receptor 5-HT_{1A} en ratas tratadas con CLI

5.2. *Evaluación farmacológica de la función del receptor 5-HT_{1A} en la prueba de nado forzado*

Para analizar si el tratamiento neonatal con CLI afectó la sensibilidad del receptor 5-HT_{1A}, se administró 8-OH-DPAT un agonista selectivo de este receptor, en dosis de 0.25 y 0.5 mg/kg en un esquema de administración subcrónico 48, 24 horas y

30 minutos antes de la PNF, vía subcutánea. Ambos grupos de animales fueron sometidos a los siguientes tratamientos: a) solución salina; b) 8-OH-DPAT 0.25mg/kg; c) 8-OH-DPAT 0.5mg/kg.

Prueba de Nado Forzado (PNF)

La prueba de nado forzado se realizó con el procedimiento descrito por Lucki. (1997; Vázquez-Palacios, *et al.*, 2005). Se colocó a la rata en un cilindro de vidrio (46 cm de alto x 20 cm de diámetro) conteniendo una columna de agua de 30 cm a una temperatura de 24 °C. Este método ha sido previamente descrito y ha mostrado validez para detectar efectos antidepresivos de diversos fármacos (Detke, *et al.*, 1995).

Se realizaron dos sesiones de prueba: la primera con una duración de 15 minutos y la segunda 24 horas después con una duración de 5 minutos; ésta segunda sesión con la finalidad de medir el efecto de los tratamientos. En esta segunda prueba se evalúan las siguientes conductas de acuerdo con Lucki (1997):

- i) Inmovilidad: Permanece flotando en el agua y sólo realiza los movimientos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua.
- ii) Nado: Realiza movimientos activos de nado más de los necesarios para mantener su cabeza fuera del agua; por ejemplo: movimientos alrededor del cilindro.
- iii) Escalamiento: Movimientos con sus patas delanteras para salir del agua, usualmente por las paredes del cilindro.

Se tomaron registros del comportamiento de las ratas en un muestreo cada 5 segundos (número de cuentas). durante los 5 minutos que dura la PNF (60 cuentas en total).

5.3. *Evaluación de la expresión del receptor serotoninérgico 5-HT_{1A} en ratas tratadas neonatalmente con clomipramina.*

Se analizó el efecto del tratamiento neonatal con CLI sobre la expresión del receptor 5-HT_{1A}, en ratas CON y CLI sin ningún otro tratamiento.

Después de cada tratamiento los animales fueron sacrificados por decapitación. Se extrajo el encéfalo en condiciones asépticas y utilizando material previamente estéril se disecó el núcleo del rafe, hipotálamo e hipocampo. El tejido fue pesado y almacenado a -70 °C hasta su utilización para la extracción del ácido ribonucleico (ARN) total.

Obtención y cuantificación del ARN total. El tejido (50 mg) fue homogenizado en 500 µl de trizol, posteriormente se adicionaron 100 µl de cloroformo y las muestras se centrifugaron a 12,000 r.p.m. durante 19 minutos a 4 °C, inmediatamente después, se colectó el sobrenadante y se agregó un volumen igual de isopropanol (0-4 °C), las muestras se incubaron de 10-15 minutos a 4 °C. Posteriormente se centrifugaron bajo las mismas condiciones arriba descritas. El ARN que se precipitó se lavó con etanol al 75% en agua tratada previamente con 0.1% de di-etil-pirocarbonato (agua DEPC), el precipitado de ARN se resuspendió en un volumen total de 30-50 µl de agua DEPC. La cantidad y calidad del ARN extraído, se evaluó a través del índice de absorbancia de 260/280 nm.

Transcriptasa reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Para la síntesis del ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) se utilizó la transcriptasa reversa del virus de la leucemia murina de Molovney. Se tomaron 4 µl de ARN de cada muestra, se adicionó agua estéril a un volumen total de 6 µl. Las muestras se desnaturalizarán a 70 °C durante 10 minutos. Inmediatamente después se incubaron en baño de hielo con agitación continua durante 5 minutos. Posteriormente, se adicionó un volumen total de 14 µl de la mezcla de retrotranscriptasa, la cual contiene lo siguiente; amortiguador para RT 5X, dNTPs (2.5 mM), ditreititol (1.0 mM), indicadores aleatorios (random primers) 1 µg/µl e inhibidor de ARNasa (1U/µl). La mezcla se incubó con la transcriptasa reversa (200 U/µl) a 37 °C durante 1 hora. Con una etapa final a 95 °C durante 10 minutos y al final se adicionaron 5 µl de agua estéril. Para la reacción en cadena de la polimerasa, se utilizó una mezcla de reacción con la siguiente composición: agua estéril inyectable, iniciadores correspondientes a los genes

de interés (Tabla 1) dNTPs (2.5 mM), Amortiguador 10X para PCR, MgCl₂ (50 mM), ADNc y Taq DNA polimerasa (1U/μl). A las reacciones de amplificación se les adiciono aceite mineral para evitar su evaporación y las condiciones del termociclador fueron de una primera etapa 95 °C por 5 minutos y se corrieron en forma automática por 30 ciclos. Cada ciclo consistió de 95 °C por 1 minuto, 60 °C por 1 minuto y 72 °C por 1.5 minutos, con una etapa final de extensión a 72 °C por 5 minutos. El gen utilizado como control de la PCR fue la expresión del gen para β -Actina.

Tabla 1. Secuencias de oligonucleótidos para la PCR

Receptor	Secuencia	Ciclos
5-HT _{1A} (540 PB)	5`- CTGTTGCTGGGTACTCTCATTTTCTG-`3 `3-TCTGAAGATGCGCCCGTAGAGAACCA -5`	29
β-Actina (517 PB)	5`- ATCGTGGGCCCGCCCTAGGCACCAGGG -`3 3`- AGACCTTCAACACCCCAGCCATGTAC -`5	25

Los productos amplificados de la PCR, se corrieron en una cámara horizontal de electroforésis, junto con un marcador de peso molecular de 100 pb en un gel de agarosa al 1.5 % que contenía bromuro de etidio 0.5 mg/ml por 45 minutos a 70 volts en amortiguador TBE 1X. El gel se visualizó con un transiluminador de luz ultravioleta y se utilizó el sistema de fotodocumentación BIO RAD Gel. Doc XR with Image Lab Software para la cuantificación de las bandas correspondientes. Los valores de expresión del receptor se calcularon y se normalizaron contra el área representada por la expresión del gen constitutivo para la β-Actina. Los resultados fueron expresados en unidades arbitrarias del área por la intensidad máxima.

5.4. Evaluación de la conducta sexual masculina después de la administración de estradiol.

Con el fin de analizar la participación de E₂ en las alteraciones conductuales de ratas tratadas neonatalmente con CLI, a ratas tanto CON como CLI con tres meses de edad se les realizaron tres pruebas de CSM, posterior a las cuales fueron orquitectomizados (ORQ) para evitar la participación de hormonas endógenas en el

experimento. Después de 3 semanas de la cirugía se comenzó el tratamiento hormonal. Ambos grupos de animales fueron sometidos a los siguientes tratamientos: a) SHAM + aceite; b) castrados (ORQ) + aceite; c) ORQ + 5µg de E₂; d) ORQ + 5µg de E₂+ 1 mg de DHT; e) ORQ + 10 µg de E₂; f) ORQ + 10 µg de E₂ + 1 mg de DHT. Todos los tratamientos fueron durante 21 días y se realizaron evaluaciones de CSM en los días 1, 7, 14 y 21 de tratamiento.

Orquidectomía

A los 3 meses de edad tanto el grupo CON como el CLI fueron divididos en dos grupos: grupo 1) orquidectomizados o castrados (ORQ) y grupo 2) SHAM (a los que se les realizó una incisión sin extracción de los testículos).

Los animales fueron castrados bajo anestesia con éter etílico. Se realizó una incisión de aproximadamente 1 cm. en el área ventral, los testículos fueron extraídos y removidos incluyendo el epidídimo. Se verificó la orquidectomía contando los testículos después de cada cirugía. Se suturó a las ratas y se les colocó en una caja limpia para su recuperación (Ver Figura 3).

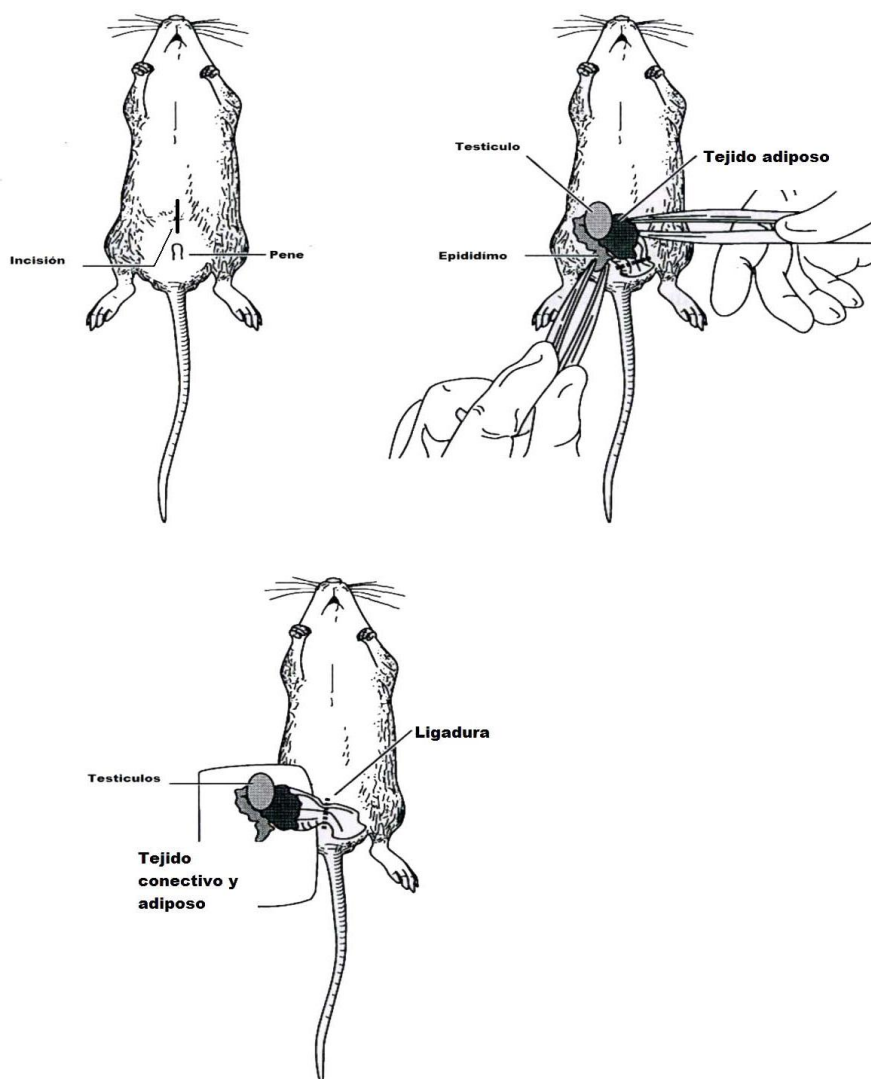


Figura 3. Procedimiento de orquidectomía. **A.** Se realiza una incisión de 1cm en el área ventral. **B.** Los testículos y la grasa asociada son extraídos con pinzas. **C.** Se realiza una ligadura alrededor de los conductos deferentes y la arteria testicular y se cortan los testículos y el tejido adiposo adyacente. Modificado de: Sisk y Meek, 1997.

Prueba de conducta sexual masculina

El macho se introdujo en un redondel de plexiglás transparente con un diámetro de 45 cm con piso de aserrín, durante 5 minutos como habituación. Posteriormente se introdujo una hembra receptiva, la cual fue tratada previamente con estradiol (10 $\mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ 48 horas antes de la prueba) y progesterona (1 mg/ 0.1 ml 4 horas antes de la prueba). La prueba con una duración de 30 minutos durante los cuales se cuantificaron los siguientes parámetros conductuales: latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), número de montas (NM), número de intromisiones (NI), latencia de eyaculación (LE), el periodo refractario (PR) y frecuencia de eyaculación (FE).

5.5. *Análisis estadístico*

Para comparar los tiempos de inmovilidad en la PNF se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de una prueba de Newman Keuls con un nivel de significancia de $p < 0.05$ como prueba post hoc.

Para comparar los niveles de expresión del receptor 5-HT_{1A} se utilizó una t de Student con un nivel de significancia de $p < 0.01$ para realizar la comparación entre grupos.

Para comparar los resultados de la CSM se utilizó un ANOVA no paramétrico en este caso una prueba de Kruskal Wallis posteriormente se realizó una prueba U de Mann-Whitney como prueba *post hoc* con un nivel de significancia de $p < 0.01$.

Para analizar el porcentaje de individuos que montan, intromiten y eyaculan en prueba de CSM se aplicó la prueba Chi-cuadrada con una significancia de $p < 0.05$.

6. RESULTADOS

6.1. Evaluación del efecto del tratamiento neonatal con CLI en la PNF

En la figura 4 se muestra el efecto del tratamiento neonatal con CLI y solución salina sobre el tiempo de inmovilidad de ratas sometidas a la PNF en la edad adulta. Se observa que el número de cuentas de inmovilidad se incrementa significativamente en el grupo tratado con CLI comparado con el grupo control ($p < 0.05$), al mismo tiempo dicho tratamiento produce una disminución del nado ($p < 0.05$) sin modificar la conducta de escalamiento.

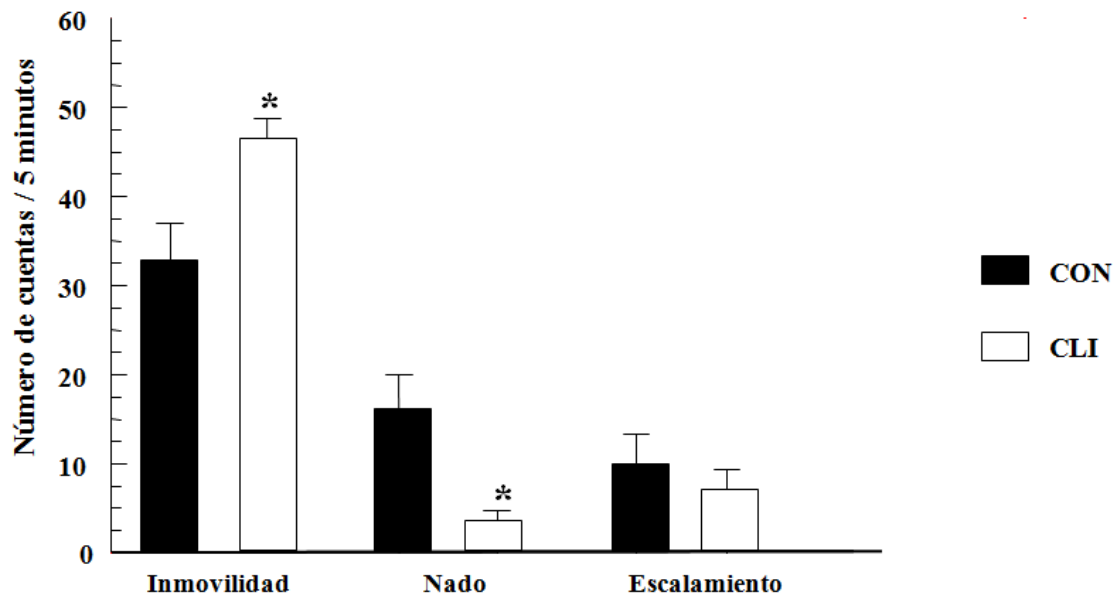


Figura 4. Efecto de la administración neonatal de CLI sobre el tiempo de inmovilidad durante la PNF. En el grupo tratado neonatalmente con CLI se observa un incremento en el tiempo de inmovilidad y una disminución de las conductas activas comparado con el grupo tratado con solución salina (CON). Media ($n = 7$) \pm E.E.M, ANOVA de una vía seguida de Newman Keuls * $p < 0.05$.

6.2. Evaluación farmacológica de la función del receptor 5-HT_{1A} en la PNF

El efecto de la administración de dos dosis (0.25 mg/kg y 0.5 mg/kg) de 8-OH-DPAT sobre la PNF tanto a machos tratados con CLI como solución salina (CON) se observa en la figura 5. La administración de 8-OH-DPAT en el grupo CON ($p < 0.05$) y CLI induce una disminución de la conducta de inmovilidad acompañada de un incremento en la conducta de nado en ambas dosis. En el caso del grupo CLI se observa una importante disminución de la inmovilidad y un incremento significativo de la conducta de nado ($p < 0.01$), con una eficacia similar a la observada en el grupo CON.

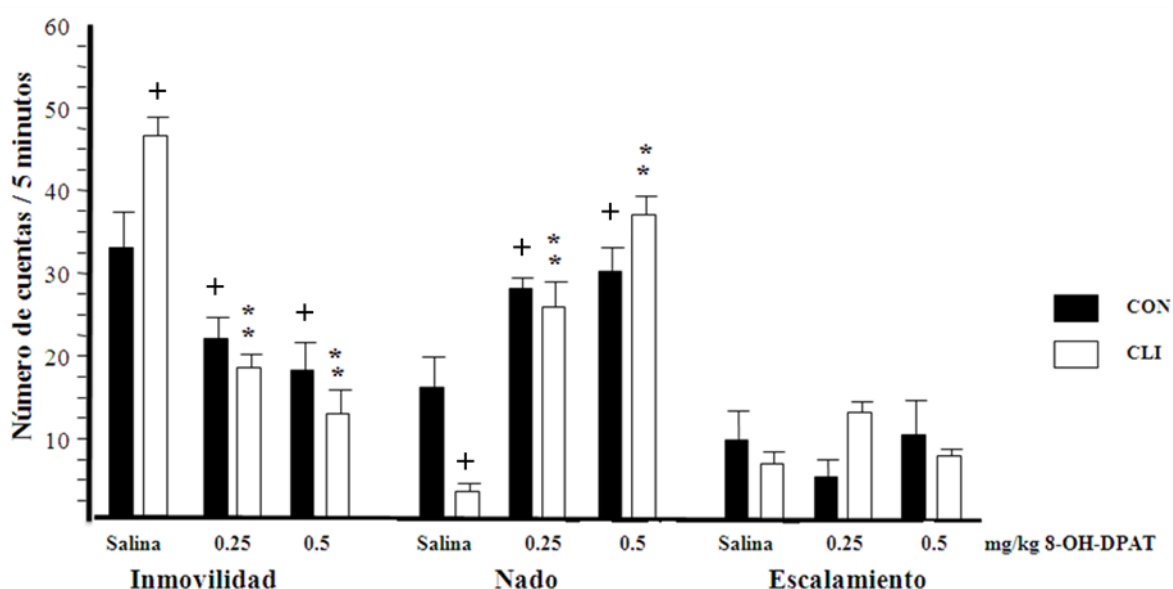


Figura 5. Efectos conductuales de la administración de 8-OH-DPAT sobre la PNF en ratas tratadas neonatalmente con CLI. El tratamiento con 8-OH-DPAT disminuye la inmovilidad incrementando el nado tanto en el grupo tratado neonatalmente con CLI como el grupo CON. Media ($n = 7$) \pm E.E.M, ANOVA de una vía seguida de Newman Keuls * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs CLI salina; + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ vs CON salina.

6.3. Evaluación de la expresión del receptor 5-HT_{1A} en ratas tratadas neonatalmente con CLI

En la figura 6 se muestra como los niveles de ARNm para el receptor 5-HT_{1A} en el núcleo del rafé disminuyen significativamente en un 50% en el grupo tratado con CLI ($p < 0.0005$) con respecto al grupo CON tratado con solución salina.

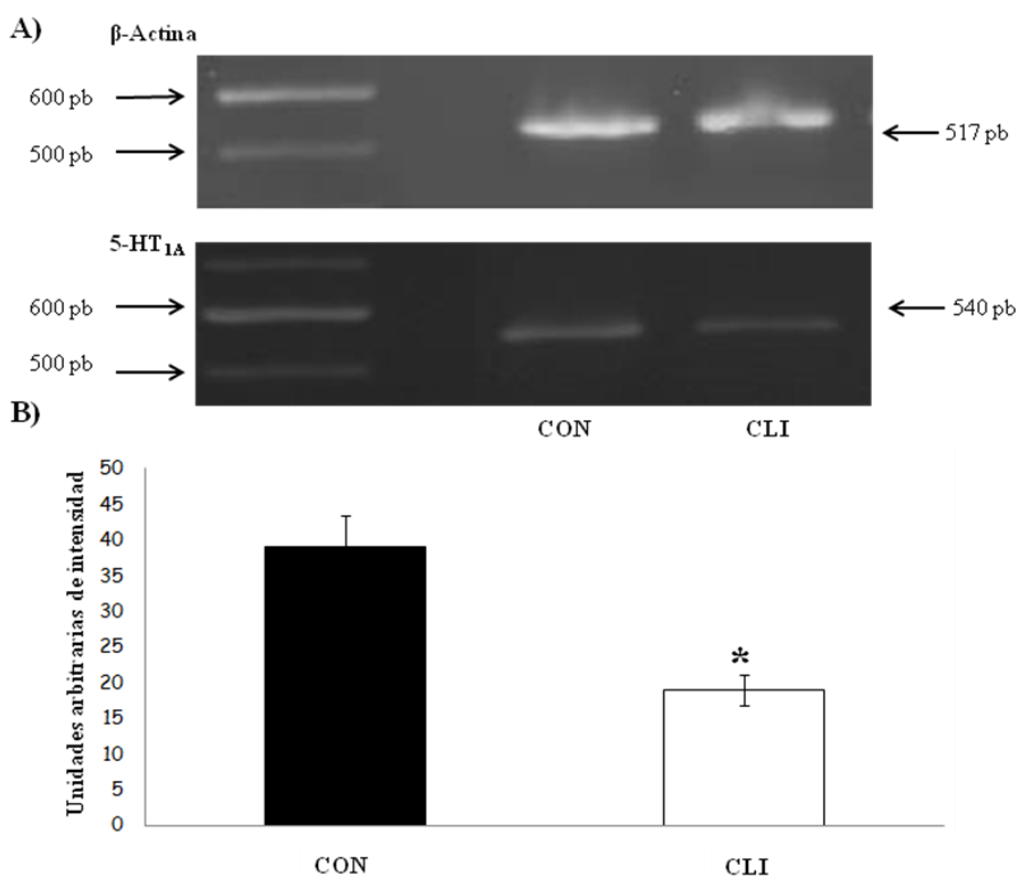


Figura 6. Niveles de ARNm del receptor 5-HT_{1A} en núcleo del rafe de ratas tratadas con solución salina (CON) y CLI. A) Fotografía del gen representativo, tanto del gen constitutivo (β - actina) como del gen del receptor 5-HT_{1A}. B) Se observa una disminución en la cantidad de ARNm del receptor 5-HT_{1A} en el grupo tratado con CLI. t de Student , Media (n= 3) \pm E.E.M, * p< 0.001.

En el caso de los receptores postsinápticos ubicados en el hipotálamo (figura 7) se observa que el tratamiento neonatal con CLI provoca un incremento significativo en aproximadamente un 40% (p<0.0002) en la expresión del ARNm para el receptor 5-HT_{1A}. De manera similar en hipocampo (figura 8) se observa que el tratamiento neonatal con CLI provoca un incremento significativo de 40% aproximadamente (p<0.0004) en la cantidad de ARNm para el receptor 5-HT_{1A} en el grupo tratado neonatalmente con CLI.

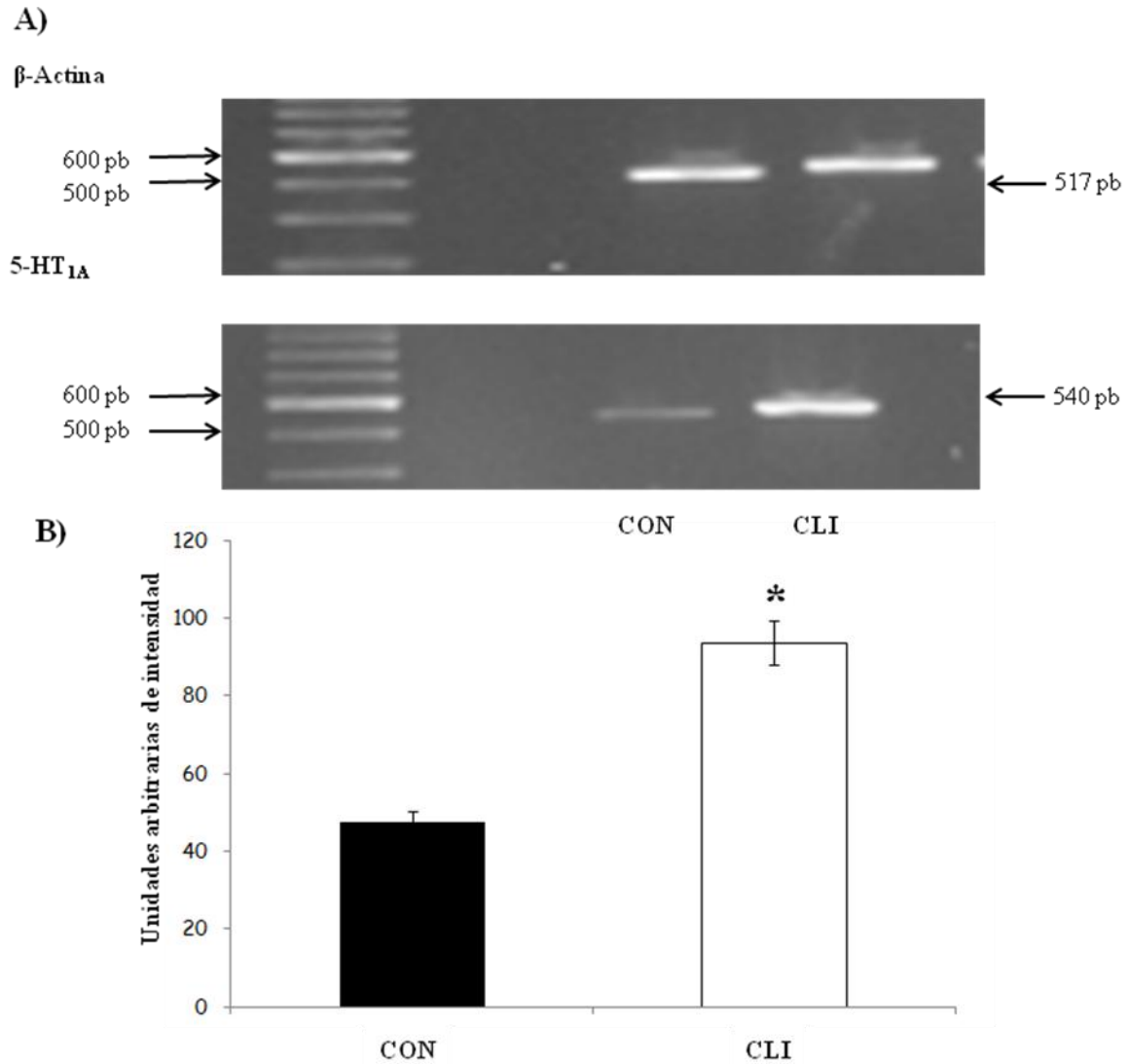


Figura 7. Expresión semicuantitativa del ARNm del receptor 5-HT_{1A} en hipotálamo de ratas CLI. A) Fotografía representativa tanto del gen constitutivo β - actina como del gen problema. B) Nótese un incremento en la cantidad de ARNm del receptor 5-HT_{1A} en el grupo tratado con CLI. t de Student, Media (n= 3) \pm E.E.M, * p< 0.001.

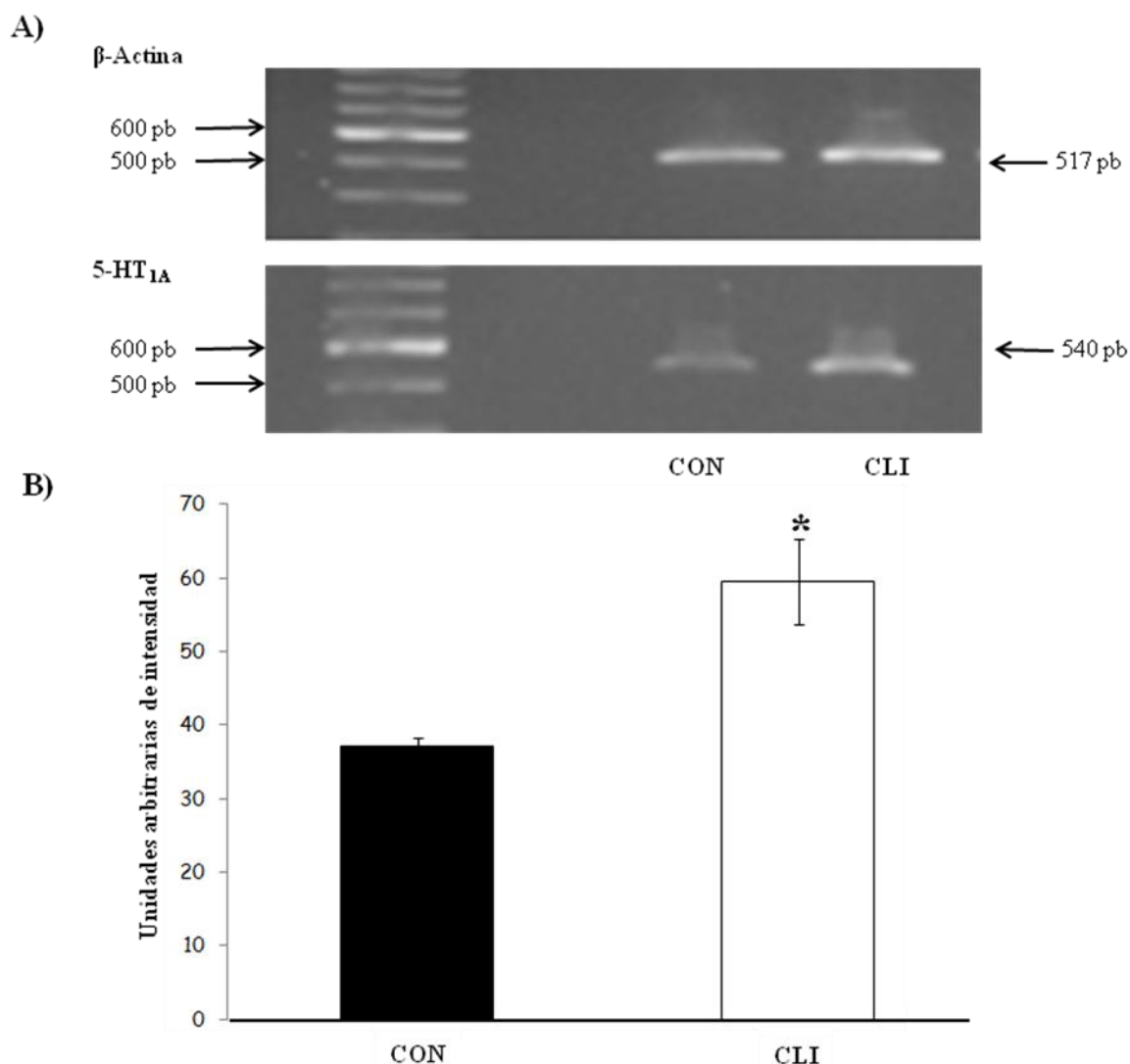


Figura 8. Expresión del ARNm del receptor 5-HT_{1A} en hipocampo de ratas tratadas neonatalmente con CLI. A) Fotografía de la amplificación de un fragmento de β -actina y 5-HT_{1A}. B) Se puede observar un incremento en la cantidad de ARNm del receptor 5-HT_{1A} en el grupo tratado con CLI. t de Student, Media (n= 3) \pm E.E.M, * p< 0.001.

6.4. Efecto del tratamiento neonatal con CLI sobre la CSM

El porcentaje de individuos que despliegan montas, intromisiones y eyaculaciones en la tercera prueba de CSM realizada a animales tratados neonatalmente con CLI y solución salina se muestra en la Figura 9. El tratamiento neonatal con CLI no afecta significativamente el porcentaje de machos que presentan montas, en contraste afecta de manera significativa el porcentaje de machos que intromiten disminuyéndolo a 41% (p<0.01) y que eyaculan un 94% en comparación con las ratas tratadas con

solución salina. ($p < 0.01$). Con respecto a los parámetros copulatorios de ratas tratadas neonatalmente con CLI y CON (solución salina) en la tercera prueba de CSM (Tabla 2). Los resultados en los parámetros copulatorios son únicamente de los machos que presentaron conducta sexual (24 machos CON y 4 machos tratados con CLI). El tratamiento neonatal con CLI produce un deterioro de la CSM, al inducir un incremento significativo en la latencia de monta, de intromisión y de eyaculación. Los animales del grupo CON presentaron una latencia de monta de 5.5 segundos en promedio, mientras que en el grupo CLI este tiempo se incrementa a 175 segundos en promedio ($p < 0.01$). En el caso de la latencia de intromisión ésta se incrementa a 244.5 segundos en los individuos tratados con CLI, aproximadamente 4 minutos más que en el grupo control con una latencia de 5.5 segundos ($p < 0.01$). Por otro lado, la latencia de eyaculación se incrementa sin que este incremento sea significativo. Respecto a la frecuencia de eyaculación, el tratamiento neonatal con CLI produce una disminución significativa de 30% en comparación con los machos CON. Las ratas CLI únicamente alcanzaron 1.75 eyaculaciones en promedio contra 2.5 en el grupo CON, sin embargo esta diferencia no resulta significativa. En el grupo tratado con CLI se pudo observar una tendencia a incrementar el número de montas y a disminuir el número de intromisiones necesarias para alcanzar una eyaculación y por tanto disminuyó la tasa de aciertos (Hit Rate) sin que esta sea significativa.

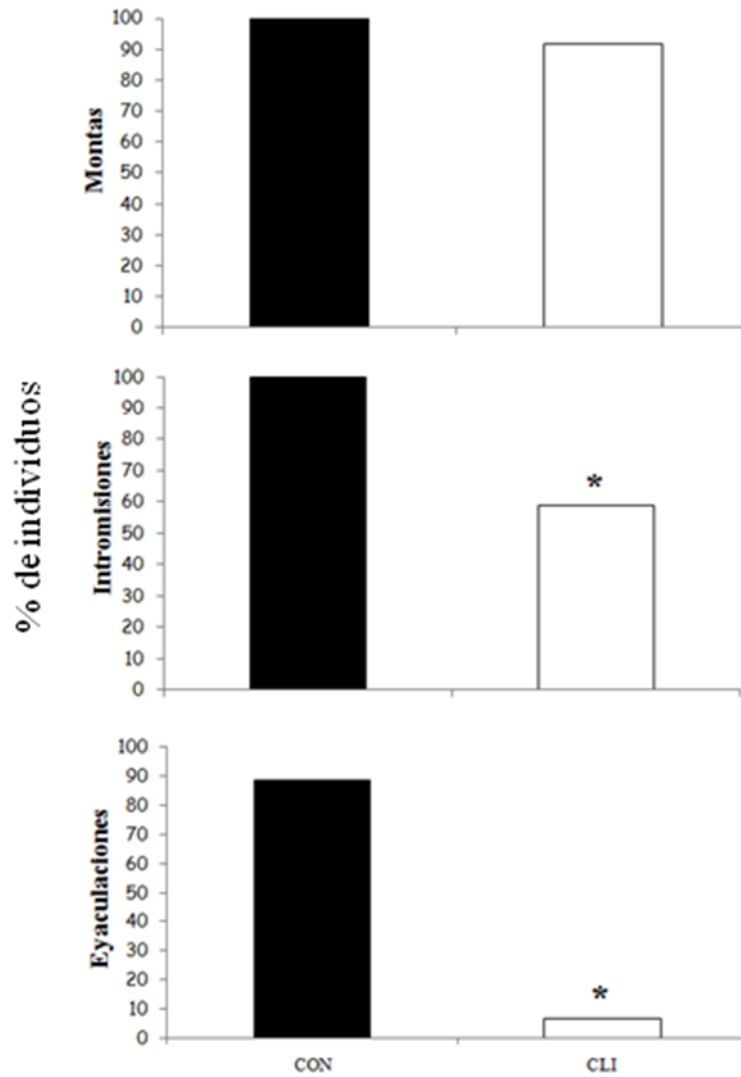


Figura 9. Efecto de la administración neonatal de CLI sobre el porcentaje de individuos que despliegan montas, intromisiones y eyaculaciones. El tratamiento con CLI disminuye significativamente el porcentaje de machos que presentan intromisiones y eyaculaciones, sin afectar el porcentaje de individuos que montan. X^2 , Media (n= 24-26) \pm E.E.M,*, p< 0.01.

Tabla 2. Parámetros de CSM en ratas tratadas neonatalmente con solución salina y CLI en su tercera prueba de conducta sexual.

	<i>FE</i>	<i>LM</i>	<i>LI</i>	<i>LE</i>	<i>NM</i>	<i>NI</i>	<i>HR</i>	<i>PR</i>
CON (n=24)	2.5 \pm 0.24	5.5 \pm 1.66	5.5 \pm 1.66	611.90 \pm 116.7	7.61 \pm 2.1	10.72 \pm 1.74	0.64 \pm 0.04	322.05 \pm 16.23
CLI (n=4/26)	1.75 \pm 0.28	175.5 \pm 55.17**	244.6 \pm 75.25**	904 \pm 112.64	11.25 \pm 1.95	9 \pm 0.42	0.5 \pm 0.03	332.66 \pm 18.05

Abreviaturas: FE= frecuencia de eyaculación, LM= latencia de monta, LI= latencia de intromisión, LE= latencia de eyaculación, NM= número de montas, NI= número de intromisiones, HR= hit rate o tasa de aciertos, PR= periodo refractario. Kruskal Wallis, Media (n= 24-26) \pm E.E.M, * p< 0.05, ** p< 0.01.

6.1. *Evaluación de la CSM después de la administración de E₂*

Efecto del tratamiento con E₂ durante 21 días y la combinación de este con 1 mg de DHT sobre el porcentaje de sujetos que montan en ratas castradas tratadas neonatalmente con CLI y CON (figura 10). Se pudo observar que la castración por 3 semanas afecta el porcentaje de individuos que despliegan montas las cuales disminuyen en un 25%, en el caso del grupo CON ($p < 0.05$), y un 44% para el grupo tratado con CLI ($p < 0.02$). Conforme transcurre el tiempo de castración se reduce el porcentaje de individuos que despliegan montas desapareciendo totalmente este parámetro después de 6 semanas en ambos grupos. Por otro lado, la administración de 5 μg de E₂ restituye gradualmente el número de individuos que montan, de un 50% hasta llegar a un 100% ($p < 0.01$) después de 21 días de tratamiento hormonal en las ratas CON, mientras que en las ratas tratadas con CLI solo el 90% ($p < 0.01$) despliega esta conducta. En tanto que, el tratamiento con 10 μg de E₂ mantiene este patrón después de 7 días de administración incrementándolo al 100% tanto en los CON como en los tratados neonatalmente con CLI. En el caso del tratamiento combinado de E₂+DHT logra restituir la conducta de monta en el 100% de los individuos en ambos grupos después de 14 días de su administración.

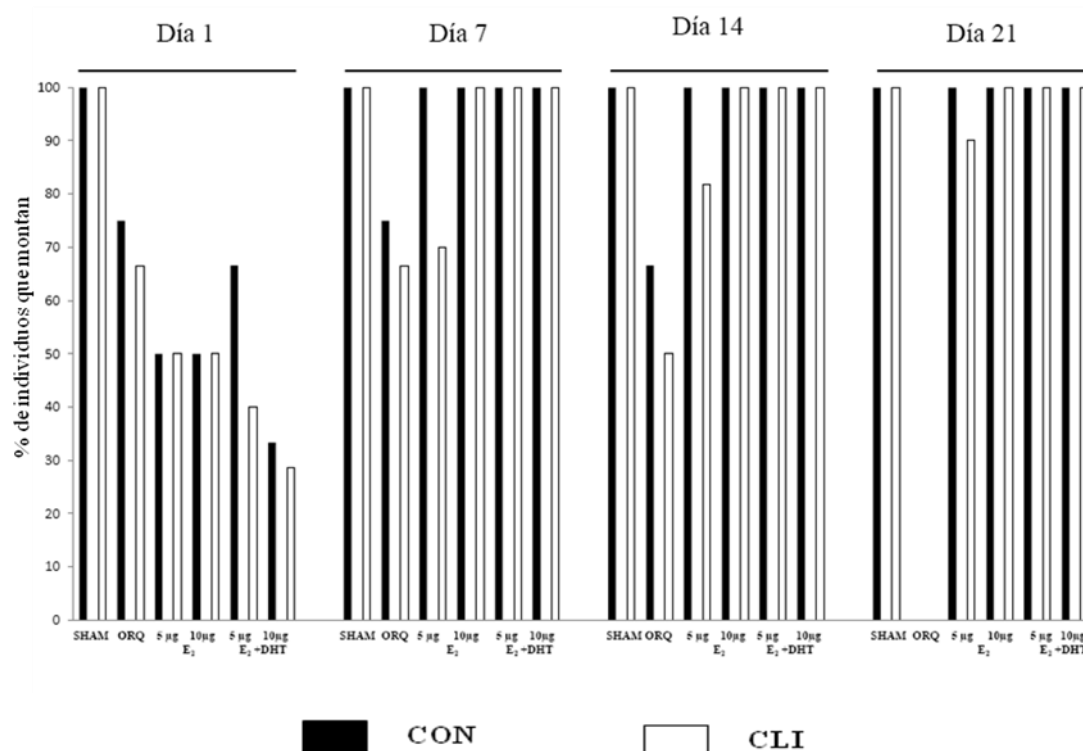


Figura 10. Efecto de la administración de E₂ durante 21 días a ratas tratadas neonatalmente con CLI sobre el porcentaje de individuos que despliegan montas al día 1, 7, 14 y 21. El tratamiento con E₂ logra restablecer por completo el porcentaje de machos que montan en el grupo control y parcialmente en el grupo CLI. X², Media (n= 4-11) ± E.E.M,* p< 0.05 respecto a CLI SHAM.

Por otro lado en cuanto a los resultados del porcentaje de individuos que presentan intromisiones a lo largo del tratamiento hormonal se muestra en la Figura 11. Se puede observar que la castración afecta significativamente el porcentaje de individuos que presentan intromisiones tanto en los individuos CON como en los tratados neonatalmente con CLI, aboliendo esta conducta en el 100% de los individuos desde la tercera semana de castración. El tratamiento hormonal con E₂ incrementa paulatinamente el porcentaje de sujetos que intromiten, en el grupo CON alcanzando el 100%, 14 días después de la administración de 5 µg de E₂, con esta misma dosis, las ratas tratadas con CLI alcanza solo el 90% de los individuos que despliegan este parámetro, el cual se mantiene hasta los 21 días de tratamiento. (p<0.01).

En cuanto al tratamiento con de E₂ a las concentraciones de 5 y 10 µg en combinación con 1 mg de DHT se logra restablecer el patrón conductual de intromisión

en ambos grupos. En el grupo CON induce que el 100% de los animales tratados desplieguen la conducta de intromisión desde el día 7 de administración hormonal, dicho porcentaje se mantiene a lo largo del tratamiento. En contraste, en el grupo CLI ambas dosis recuperan el patrón de intromisión a partir del día 7 en un 80% para la dosis de 5 μg de E_2 + DHT y 90% en la dosis de 10 μg de E_2 + DHT, dichos porcentajes se incrementan a 100% ($p < 0.01$) de los machos a partir del día 14 y se mantienen hasta el final del experimento.

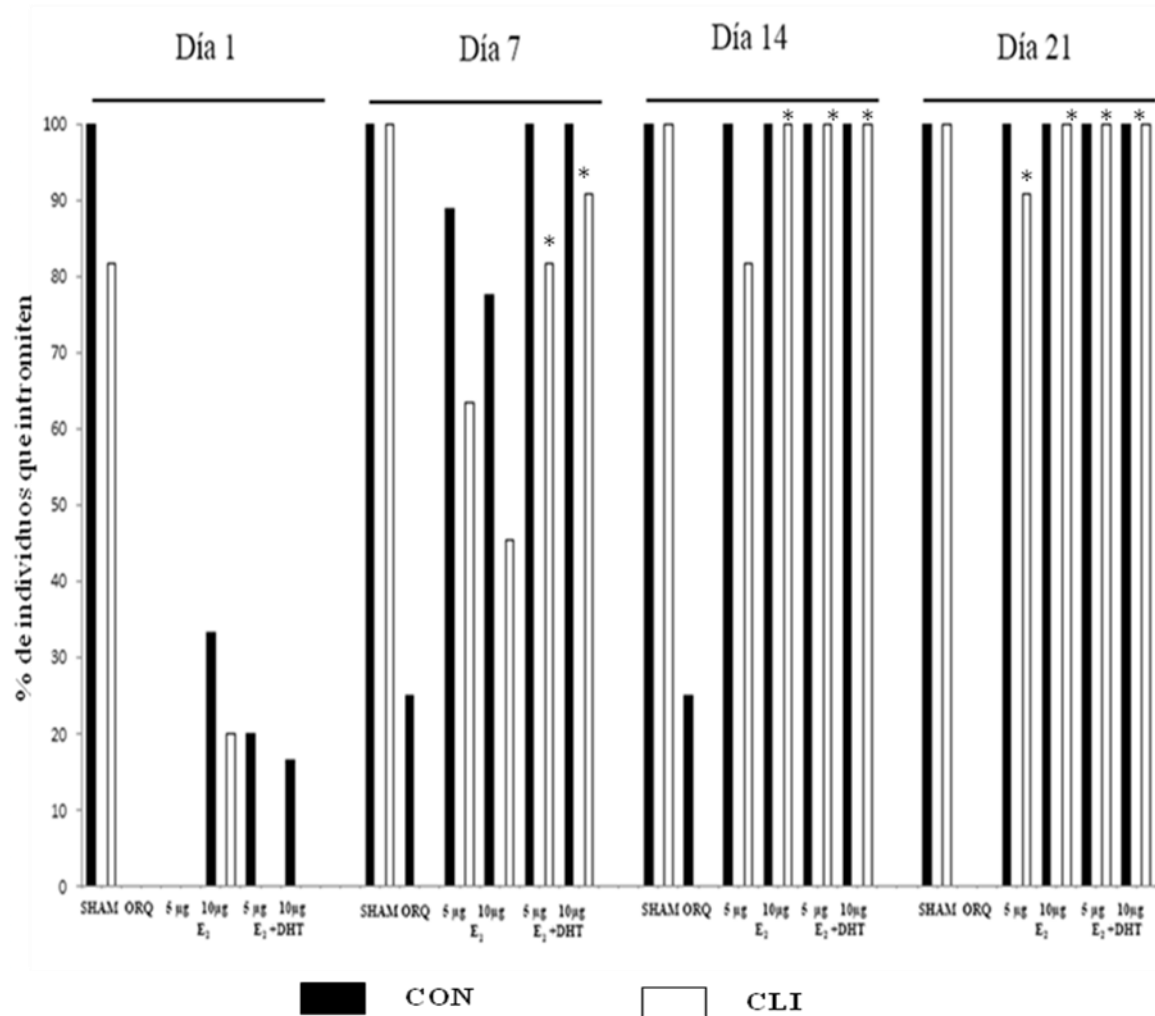


Figura 11. Porcentaje de individuos tratados neonatalmente con CLI que realizan intromisiones durante 21 días de tratamiento con E_2 . El tratamiento con E_2 y la combinación con DHT logran restablecer el porcentaje de individuos que intromiten. (SHAM). χ^2 , Media ($n = 4-11$) \pm E.E.M., * $p < 0.05$ respecto a CLI SHAM.

En la Figura 12 se muestra el efecto del tratamiento con E_2 y DHT sobre el porcentaje de individuos que eyaculan. Después de 21 días de castración la conducta de eyaculación desaparece totalmente en ambos grupos de animales (CON y CLI).

Por otro lado después de 7 días de tratamiento con 5 μg de E_2 se restablece este patrón en un 33% de los individuos del grupo CON, posteriormente el porcentaje de individuos que eyaculan en el grupo CON disminuye a un 10% en el día 14 y se mantiene así a lo largo del tratamiento. En el caso del grupo tratado con CLI, la dosis de 5 μg de E_2 no es capaz de restituir este parámetro. La dosis de 10 μg restablece el patrón de eyaculación en un 10% en los individuos del grupo CON después de una semana de tratamiento, sin embargo en las evaluaciones siguientes no se presentan este patrón en este grupo. En el grupo CLI el tratamiento con 10 μg de E_2 es insuficiente para mantener la conducta de eyaculación.

En el caso de la administración de $\text{E}_2 + \text{DHT}$ da inicio al restablecimiento del patrón de eyaculación en ambos grupos de animales desde el día 7 de tratamiento. En el grupo CON la dosis de 5 μg de $\text{E}_2 + \text{DHT}$ restablece el patrón de eyaculación en el 70% de los individuos para el día 7 de tratamiento, en cambio en el grupo tratado con CLI solo el 20% ($p < 0.02$) de los individuos. La administración por 7 días de 10 μg de $\text{E}_2 + 1 \text{ mg}$ de DHT restaura el patrón de eyaculación en un 80% de los individuos CON y un 33% de los machos CLI ($p < 0.02$). El patrón de eyaculación se restablece en el 100% de los machos CON desde los 14 días de tratamiento, mientras que en el grupo CLI se incrementa a 90% ($p < 0.01$) hasta los 21 días de tratamiento.

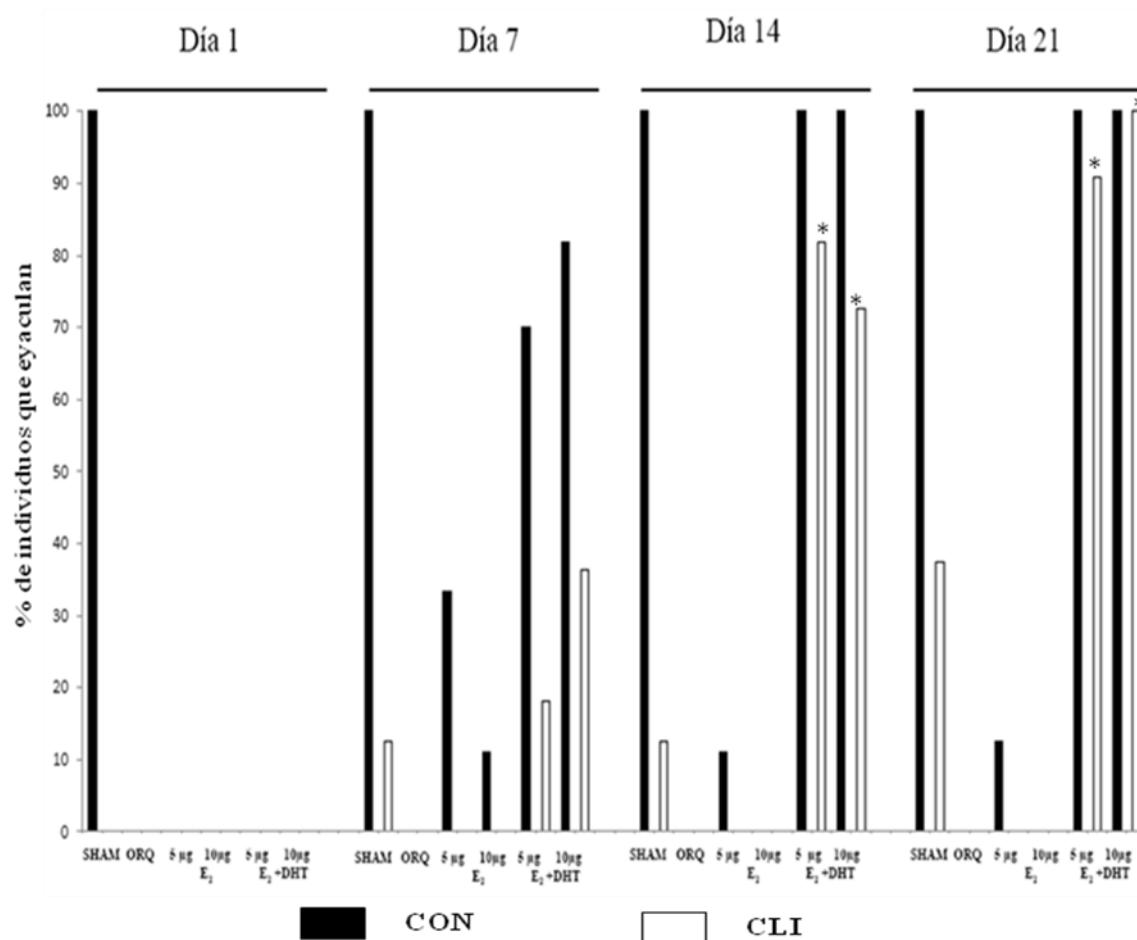


Figura 12 Efecto del tratamiento por 21 días con E₂ a ratas tratadas neonatalmente con CLI sobre el porcentaje de individuos que despliegan eyaculaciones. La administración de E₂ y DHT restablece el porcentaje de machos que eyaculan. X², Media (n= 4-11) ± E.E.M,*, p< 0.05 respecto a CLI SHAM.

La Tabla 3 muestra los efectos del tratamiento hormonal sobre los parámetros copulatorios. La castración por 4 semanas deteriora la conducta sexual en ambos grupos (CLI y CON), ya que dichos animales no presentan eyaculaciones. Con respecto a la latencia de monta se incrementa de 15 segundos en promedio en el grupo SHAM a 194 segundos en animales castrados, esto en el grupo CON (p<0.05). Por otro lado, en el grupo tratado con CLI la latencia de intromisión se incrementa aproximadamente 8 veces, con una latencia de 823.6 segundos en promedio (p<0.01) (Tabla 3). La latencia de intromisión se incrementa en el grupo CON después de 4 semanas de castración mostrando una latencia de 597 segundos comparado con el SHAM (36.6 segundos) (p<0.001). En el grupo CLI, los animales no presentan el patrón de intromisión.

El tratamiento con E₂ en animales CON logran restablecer la conducta de eyaculación y disminuir las latencias de monta e intromisión en ambos grupos. En cuanto

a la latencia de monta el tratamiento con E₂ logra que se disminuya respecto a la presentada por animales CON castrados, además comienzan a presentarse intromisiones en el grupo CLI. En el grupo CON el tratamiento con 5 µg de E₂ logra que la latencia de monta disminuya a valores similares a los presentados por las ratas CON SHAM a 13.8 segundos en promedio, en las ratas CLI castradas se disminuye de 823 segundos en animales castrados a 578.1 segundos (p<0.01). La latencia de intromisión también disminuye por efecto del tratamiento hormonal en los animales CON tratados con 5 µg de E₂, reduciéndose a 42.5 segundos logrando normalizarse. En el grupo tratado con CLI la latencia de intromisión se incrementa respecto a los valores presentados por su grupo SHAM (653.7 segundos) sin embargo esta diferencia no es significativa. Respecto a la frecuencia de eyaculación, el tratamiento con E₂ 5 µg en las ratas CON es capaz de establecer el patrón eyaculatorio sin que se presente con la frecuencia de los animales CON SHAM, presentando sólo una eyaculación (p<0.05) durante la prueba y un incremento en la latencia de este parámetro hasta de 1177 segundos en promedio (p<0.05). Cabe mencionar que en el día 7 de tratamiento menos del 50% de los individuos CON presentan eyaculaciones, este tratamiento con E₂ no logra que se presenten eyaculaciones en el grupo CLI. En cuanto al número de montas e intromisiones en el grupo CON la administración de 5 µg de E₂ hace que se presenten ligeramente incrementados con respecto al SHAM presentando 16 montas (p<0.05) y 13.6 intromisiones (p<0.05) en promedio. Con respecto a la tasa de aciertos se normaliza a valores similares al SHAM mostrando una tendencia a disminuir pero nuevamente no hay diferencias significativas. El periodo refractario se ve normalizado (354 segundos) por la administración de 5 µg de E₂ a niveles mostrados por SHAM. En el caso de la dosis de E₂ de 10 µg la latencia de monta en el grupo CON se ve incrementada a 56 segundos (p<0.05) respecto a los animales SHAM, en el grupo CLI hay una disminución en este parámetro, sin llegar a los niveles de su SHAM, mostrando valores de 112 segundos en promedio, sin que esta diferencia sea significativa. La latencia de intromisión se reduce en los machos CON respecto de su control castrado llegando a 488.7 segundos en promedio (p<0.05), por otro lado el grupo CLI comienza a presentar intromisiones aunque su latencia se encuentra incrementada a 438.8 segundos esto es; aproximadamente 4 veces la que se observa en el grupo CLI SHAM (p<0.05). Nuevamente la administración de E₂ en una dosis de 10 µg recupera el patrón de eyaculación únicamente en el grupo CON presentando una frecuencia de 2 y una latencia de 849 segundos la cual esta incrementada comparada con su grupo SHAM (p<0.05). El

número de montas e intromisiones en el grupo CON se muestra ligeramente incrementado presentando valores de 17 ($p < 0.05$) y 13.6 ($p < 0.05$) respecto de su grupo SHAM, mostrando una tendencia a disminuir el Hit Rate sin que en este parámetro se presenten diferencias. Así mismo el periodo refractario parece incrementarse, pero nuevamente no existen diferencias significativas.

La administración de E_2 en combinación con DHT por una semana es capaz de revertir los efectos de la castración sobre todos los parámetros copulatorios en ambos grupos. El grupo CON presenta valores similares a los que se observan en el grupo control SHAM. La latencia de monta en animales tratados con 5 μg de E_2 y DHT muestra valores de 13 segundos en promedio para el grupo CON y de 18 segundos en los machos tratados con CLI ($p < 0.05$) valores similares a los observados en el grupo CON SHAM, un minuto menos que en el grupo CLI SHAM. El parámetro de latencia de intromisión se disminuye con la administración de 5 μg de E_2 y DHT respecto al grupo castrado y con el tratamiento hormonal en ambos grupos. En el caso del grupo CON muestra una latencia de 29.8 segundos en promedio y en el caso de los machos CLI la latencia es de 19.2 segundos ($p < 0.05$) en este caso disminuyéndose cerca de 9 veces comparado con el grupo CLI SHAM. Por otro lado, en el grupo CON tanto la latencia como la frecuencia de eyaculación se normalizan por efecto del tratamiento hormonal, en el caso de los machos tratados con CLI se comienzan a restituir las eyaculaciones por efecto del tratamiento, con una latencia de 1486 segundos, mientras que la frecuencia observada para este grupo es de 1 eyaculación en promedio. En cuanto al número de montas e intromisiones el tratamiento hormonal por 7 días con 5 μg de E_2 + DHT en el grupo CON se normaliza y en los individuos CLI ambos se encuentran ligeramente incrementados con respecto al CON SHAM, sin embargo la tasa de aciertos se alcanza valores de 0.67, muy similares a los del grupo CON. El periodo refractario en el grupo CON llega a valores de 437 segundos, en contraste en las ratas CLI tratadas con 5 μg de E_2 +DHT se observa una disminución de este parámetro con respecto incluso a los machos del grupo CON SHAM mostrando latencias de 96 segundos en promedio. El tratamiento con la dosis de 10 μg + 1 mg de DHT en los grupos CON y CLI hace que se normalicen los parámetros alterados por la castración y por el tratamiento neonatal con CLI, presentando una latencia de monta de 17 segundos en individuos CON, en el grupo CLI se disminuye a 14 ($p < 0.05$) segundos en promedio. En cuanto a la latencia de intromisión el tratamiento la reduce en los animales CON igualando a su SHAM, por otra parte el tratamiento hormonal disminuye significativamente este parámetro en los machos tratados con CLI a 23

segundos comparado con 172 que presenta el grupo CLI SHAM ($p < 0.05$). El tratamiento con 10 μg de E_2 y DHT por 7 días logra restablecer el patrón de eyaculación en machos de ambos grupos. En el grupo CON se presenta una latencia y frecuencia de eyaculación equiparables a las presentadas por el grupo SHAM, mientras que en los animales tratados neonatalmente con CLI se comienza a restablecer el patrón de eyaculación, con una latencia similar a la de machos intactos (635 segundos) y una frecuencia de 1.8 eyaculaciones ($p < 0.01$). En ambos grupos se observan números de montas e intromisiones similares a las presentadas por los individuos CON SHAM, así también se normaliza el Hit Rate siendo 0.62 en promedio para los machos CLI y 0.72 en animales CON.

Tabla 3. Parámetros de CSM en ratas castradas tratadas neonatalmente con solución salina (CON) o CLI en el día 7 de tratamiento con E₂ y DHT.

	<i>FE</i>	<i>LM</i>	<i>LI</i>	<i>LE</i>	<i>NM</i>	<i>NI</i>	<i>HR</i>	<i>PR</i>
SHAM								
<i>CON</i> (n=8)	3 ± 0.9	15 ± 1.9	36.6 ± 5.2	350.5 ± 12.5	8.3 ± 1.9	7.9 ± 1.6	0.61 ± 0.4	280.4 ± 7.02
<i>CLI</i> (n=8)	0+	103.3 ± 4.6++	172.5 ± 5.1++	-	-	-	-	-
ORQ								
<i>CON</i> (n=4)	0+	194 ± 10.02+	597 ± 9.4+	-	-	-	-	-
<i>CLI</i> (n=4)	0	823.6 ± 19.7 **	-	-	-	-	-	-
E₂ 5µg								
<i>CON</i> (n=9)	1.3 ± 0.8+	13.8 ± 1.5	42.5 ± 5.3	1177 ± 17.9+	16 ± 1.9+	13.6 ± 1.2+	0.5 ± 0.3	354.6 ± 9.4
<i>CLI</i> (n=11)	0	578.1 ± 16.9**	653.77 ± 16.7	-	-	-	-	-
E₂ 10 µg								
<i>CON</i> (n=9)	2 ± 0	56.3 ± 5.2+	488.7 ± 10.2+	849 ± 17.9+	17 ± 4.2+	13.6 ± 1.2+	0.5 ± 0.3	354.6 ± 9.4
<i>CLI</i> (n=11)	0	112 ± 13.3	438.8 ± 15.9	-	-	-	-	-
E₂ 5µg+ DHT								
<i>CON</i> (n=11)	2.8 ± 0.6	13.3 ± 2	29.8 ± 3.6	436.8 ± 16.1	2 ± 1.2+	7.2 ± 1.9	0.61 ± 0.1	437.6 ± 13.1+
<i>CLI</i> (n=8)	1	18 ± 2.1*	19.2 ± 2.2*	1486 ± 7.4	15 ± 2.5	30.5 ± 1.6	0.67 ± 0.3	96.2 ± 10.8
E₂ 10µg+ DHT								
<i>CON</i> (n=10)	2.4 ± 0.7	17.7 ± 2.2	20 ± 2.3	558.4 ± 12.3	5.7 ± 1.3	15.2 ± 1.9+	0.72 ± 0.3+	295.8 ± 7.5
<i>CLI</i> (n=11)	1.8 ± 0.9**	14.6 ± 2.5*	23 ± 3.6*	635.6 ± 10.6	8.6 ± 2.2	12.9 ± 1.5	0.62 ± 0.4	289.5 ± 6.9

Abreviaturas: FE= frecuencia de eyaculación, LM= latencia de monta, LI= latencia de intromisión, LE= latencia de eyaculación, NM= número de montas, NI= número de intromisiones, HR= hit rate o tasa de aciertos, PR= periodo refractario. Kruskal-Wallis, Media (n= 4-11) ± E.E.M, * p< 0.05, ** p< 0.01 vs. CLI SHAM, + p< 0.05, ++ p< 0.01 vs. CON SHAM.

Los efectos del tratamiento con E₂ y la combinación de esta hormona con DHT sobre los parámetros copulatorios en el día 14 se muestran en la Tabla 4. Después de 5 semanas de castración (Tabla 4) los machos del grupo CON muestran un incremento en la latencia de monta cerca de 10 veces comparado con el grupo SHAM llegando hasta 105.5 segundos en promedio, el grupo tratado neonatalmente con CLI únicamente presenta el patrón conductual de monta con un incremento en la latencia de 286.8 segundos (p<0.01) respecto a su control SHAM. Con respecto a la latencia de intromisión se observa un incremento significativo en machos CON la cual se incrementa en un 70% llegando a

174.5 segundos sin embargo en el análisis estadístico no resultan significativos. En animales con 5 semanas de castración se dejan de presentar eyaculaciones por lo que el resto de los patrones no fue evaluado.

El tratamiento con estradiol en ambas dosis, recupera los patrones de monta e intromisión en ambos grupos. En el grupo CON la administración de E₂ en las dosis de 5 µg por 2 semanas disminuye la latencia de monta presentando 34.4 segundos en promedio ($p < 0.01$), los animales tratados con CLI muestran una latencia de monta de 647.4 segundos ($p < 0.01$) similar a la presentada por el grupo castrado. En el caso de la latencia de intromisión, en el grupo CON esta se normaliza por efecto del tratamiento hormonal (42.8 segundos); el tratamiento con 5 µg de E₂ logra que se presente este patrón en machos CLI con una latencia de 598.8 segundos ($p < 0.01$). El tratamiento hormonal no logra restablecer el patrón de eyaculación, mostrando recuperación de este patrón únicamente en uno de los individuos del grupo CON en el que se manifiesta un deterioro de la conducta copulatoria al presentar una latencia de eyaculación alta con respecto al grupo SHAM, 892 segundos y una frecuencia de eyaculación de 1 durante la prueba, en contraste; el tratamiento normaliza el número de montas, de intromisiones, Hit Rate y periodo refractario mostrando valores observados también por el grupo SHAM. El tratamiento por 14 días con 10 µg de E₂ restablece únicamente los patrones de monta e intromisión en ambos grupos. En el grupo CON la latencia de monta se presenta con un incremento respecto de su grupo SHAM mostrando valores de 37.8 segundos promedio ($p < 0.01$), por otro lado en el grupo CLI este parámetro presenta valores incluso mayores que los de animales castrados con una latencia de monta de 52.1 segundos en promedio ($p < 0.05$). En cuanto a la latencia de intromisión en el grupo CON el tratamiento hormonal la restablece a los niveles del CON SHAM, en el grupo CLI el tratamiento hormonal restablece esta conducta con una latencia elevada (254.4 segundos; $p < 0.01$). El tratamiento con E₂ en una dosis de 10 µg no logra restablecer la conducta de eyaculación en ninguno de los grupos.

Por el contrario, la administración de estradiol en combinación con DHT logra restablecer todos los parámetros en ambos grupos, en los animales CLI el tratamiento hormonal por 2 semanas con estradiol y DHT restituye las alteraciones conductuales presentadas por el modelo. En el grupo CON el tratamiento con 5 µg de E₂ y DHT disminuye la latencia de monta a niveles presentados por su SHAM, en el grupo CLI se disminuye la latencia de monta a 41.3 segundos ($p < 0.05$), del mismo modo la latencia de intromisión en el grupo CON se iguala a la presentada por el grupo SHAM, en los

animales CLI se disminuye a 62 segundos en promedio, sin que esta diferencia sea significativa. En los machos CON además el número de montas e intromisiones y la latencia de eyaculación se presentan con valores similares a los del grupo CON SHAM, únicamente la frecuencia de eyaculación se presenta disminuida (1.6 eyaculaciones) sin llegar a ser significativa. En el grupo tratado neonatalmente con CLI este tratamiento restablece la conducta de eyaculación, los parámetros de: número de montas e intromisiones, Hit Rate, periodo refractario no presentan cambio respecto de su grupo SHAM, y tanto la frecuencia de eyaculación con valores de 2.3 ($p < 0.05$) y la latencia de este parámetro 421.9 ($p < 0.05$) muestran valores similares a los del grupo CON SHAM. Por otro lado el tratamiento con 10 μ g de E2 + DHT revierten totalmente las alteraciones en la conducta sexual provocadas por la castración en el grupo CON restituyendo todos los parámetros copulatorios a los parámetros de machos intactos. En el grupo CLI únicamente se presentan cambios significativos con respecto al grupo CLI SHAM en el número de montas e intromisiones con valores de 8.8 ($p < 0.05$) y 18 ($p < 0.05$) respectivamente sin que se observen cambio en la tasa de aciertos.

Tabla 4. Parámetros de copulatorios de ratas castradas tratadas neonatalmente con CLI en el día 14 de tratamiento hormonal.

	<i>FE</i>	<i>LM</i>	<i>LI</i>	<i>LE</i>	<i>NM</i>	<i>NI</i>	<i>HR</i>	<i>PR</i>
SHAM								
<i>CON (n=8)</i>	2.4 ± 0.8	15.4±25	58± 4.3	430±12.5	8.1±2.1	9.4 ±1.7	0.5 ± 0.1	295.5 ±10
<i>CLI (n=2/8)</i>	1.5± 0.8+	18.5±1.1	31.9±3.7+	1073± 6.6+	1.5±0.8+	10.5±1.8	0.87± 0.1+	353 ±8
ORQ								
<i>CON (n=4)</i>	0+	105.5 ±14++	174.5 ±14.3	-	-	-	-	-
<i>CLI (n=4)</i>	0	286.8±19.5**	-	-	-	-	-	-
E₂ 5µg								
<i>CON (n=9)</i>	1	34.4 ±3.3++	42.8 ±5.1	892+	14	19	0.6	343
<i>CLI (n=11)</i>	0	647.4±14.1**	598.8±16.3**	-	-	-	-	-
E₂ 10 µg								
<i>CON (n=9)</i>	0+	37.8±3.5++	45.8± 3.6	-	-	-	-	-
<i>CLI (n=11)</i>	0	52.1 ±3.4*	254.4±15.8**	-	-	-	-	-
E₂ 5µg + DHT								
<i>CON (n=11)</i>	1.6 ± 0.7	24.5±3.9	42.3±5.3	664.3±14.1+	8.4 ± 2.2	11.5± 2.2	0.6 ± 0.3	446.6±13.6+
<i>CLI (n=8)</i>	2.3± 0.9*	41.3±4.1*	62.1±4.6	421.9±10.3*	8.9±1.2*	9.6 ±1.3	0.5 ± 0.1**	346.1±6.1
E₂ 10µg+DHT								
<i>CON (n=10)</i>	1.8 ± 0.88	21.4 ±2.6	30 ±3.8++	573.8± 13.9	7.4 ±2.6	12.8 ± 1.7	0.69 ± 0.4	394± 13.1
<i>CLI (n=11)</i>	1.5± 0.9	15.5± 1.9	27.8 ±3.5	871.2±19.8	8.8±2.3*	18.±2.3*	0.69± 0.3	287± 10.7

Abreviaturas: FE= frecuencia de eyaculación, LM= latencia de monta, LI= latencia de intromisión, LE= latencia de eyaculación, NM= número de montas, NI= número de intromisiones, HR= hit rate o tasa de aciertos, PR= periodo refractario. Kruskal Wallis, Media (n= 4-11) ± E.E.M, * p< 0.05, ** p< 0.01 vs. CLI SHAM, + p< 0.05, ++ p< 0.01 vs. CON SHAM.

Los parámetros copulatorios de machos tratados con E₂ y la combinación de esta hormona en el día 21 se observan en la Tabla 5. Después de 6 semanas de castración tanto el grupo control como el tratado neonatalmente con CLI dejan de presentar despliegue de conducta sexual.

El tratamiento con E_2 en ambas dosis restablece la conducta de monta e intromisión en ambos grupos. La dosis de 5 μg de E_2 en el grupo CON induce latencias de monta similares a las del grupo SHAM (30 segundos en promedio; $p < 0.05$), así también en el grupo CLI se observa una disminución en la latencia de monta hasta 23.1 ($p < 0.05$) segundos. La latencia de intromisión en los individuos CON muestra una latencia de 296 segundos sin que esta sea significativa, el grupo CLI tratado con la dosis de 5 μg de E_2 muestra valores de 42.3 segundos para la latencia de intromisión muy similar a lo observado en el grupo CLI SHAM. Nuevamente el tratamiento hormonal estimula la eyaculación únicamente en un individuo CON, el cual muestra parámetros copulatorios con valores normales, excepto por la frecuencia de eyaculación la cual se ve disminuida con respecto a su SHAM, ya que presenta una sola eyaculación durante la prueba ($p < 0.01$). Por otro lado el tratamiento por 3 semanas con E_2 en una dosis de 10 μg únicamente restaura las conductas de monta e intromisión en ambos grupos. El grupo CON muestra una latencia de monta incrementada (72.5 segundos; $p < 0.01$) y una latencia de intromisión de 640.8 ($p < 0.05$) con respecto de su grupo SHAM, en los machos tratados neonatalmente con CLI la latencia de monta se disminuye con respecto a su SHAM mostrando valores de 16.8 segundos ($p < 0.01$) y una latencia de intromisión de 91 segundos ($p < 0.01$). Para el parámetro de latencia de intromisión en ratas CON se ve incrementada comparado con su SHAM mas de 20 veces presentando valores de 640 segundos ($p < 0.01$), por el contrario el grupo CLI no muestra diferencias significativas con respecto al grupo CLI SHAM.

Por último, la administración de E_2 en ambas dosis combinado con DHT, logran que se presenten eyaculaciones y una mejora de todos los parámetros en ambos grupos, alcanzando los parámetros copulatorios de los machos control SHAM. El tratamiento con 5 μg de E_2 + DHT en machos del grupo CON restablece todos los parámetros a valores similares a los grupos SHAM. En el grupo CLI a una dosis de 5 μg de E_2 + DHT no se observan cambios significativos respecto al grupo CLI SHAM en la latencia y número de intromisiones pero por otro lado, existe una mejora en el parámetro de latencia de monta con valores de 17 segundos ($p < 0.01$), latencia de eyaculación pasando de 1074 en el grupo CLI SHAM a 449.9 segundos ($p < 0.05$) incrementando también la frecuencia de este parámetro alcanzando hasta 2.4 eyaculaciones por individuo ($p < 0.05$). Además se disminuye el número de montas a 7.1 ($p < 0.05$) y se incrementa el número de intromisiones a 10.7 ($p < 0.01$) lo cual repercute en la tasa de aciertos que se incrementa hasta 0.4 más que en el grupo CLI SHAM con el tratamiento alcanzando 0.6

($p < 0.05$). Así también se reduce significativamente el periodo refractario de más de 10 minutos a cerca de la mitad presentando valores de 211 segundos ($p < 0.05$). En el caso de la dosis de $10 \mu\text{g}$ de E_2 en combinación con DHT en el grupo CON al igual que en la dosis de $5 \mu\text{g}$ de E_2 y DHT se restablecen todos los parámetros a niveles observados en el grupo SHAM, incluso se observa que la latencia de intromisión se presenta una disminución a valores de 10.1 segundos ($p < 0.05$). Este mismo tratamiento en machos tratados neonatalmente con CLI no modifica significativamente la latencia de intromisión pero induce una disminución en la latencia de monta de 34.4 a 23 segundos ($p < 0.05$) y una disminución de la latencia de eyaculación mostrando valores por debajo de los 5 minutos (260 segundos; $p < 0.01$), además se observa que la frecuencia de eyaculación se incrementa con respecto al grupo CON SHAM, presentando hasta 3.5 eyaculaciones ($p < 0.05$) durante la prueba cuando en el grupo CON SHAM se presentaban 3 en promedio, así también se disminuye el número de montas que preceden a la eyaculación a 3.7 ($p < 0.01$), por consiguiente el Hit Rate se incrementa a 0.07 ($p < 0.01$) disminuyéndose también el periodo refractario a 211 segundos en promedio ($p < 0.01$).

Tabla 5. Parámetros de copulatorios de ratas castradas tratadas neonatalmente con CLI y solución salina en el día 21 de tratamiento hormonal con E₂ y su combinación con DHT.

	<i>FE</i>	<i>LM</i>	<i>LI</i>	<i>LE</i>	<i>NM</i>	<i>NI</i>	<i>HR</i>	<i>PR</i>
SHAM								
<i>CON (n=8)</i>	3 ± 1	18.1 ± 1.3	25.6 ± 3.2	313 ± 6.7	4.5 ± 1.6	7 ± 0.9	0.64 ± 0.3	236 ± 7.6
<i>CLI (n=3/8)</i>	1 ± 0.6+	34.3 ± 4.4++	43 ± 5.2	1074 ± 14.3++	17.7 ± 2++	4.7 ± 1.1+	0.2 ± 0.07++	700 ± 21+
ORQ								
<i>CON (n=4)</i>	0++	-	-	-	-	-	-	-
<i>CLI (n=4)</i>	0	-	-	-	-	-	-	-
E₂ 5µg								
<i>CON (n=9)</i>	1++	30.5 ± 4.5+	35.3 ± 4	492	7	14+	0.7	330
<i>CLI (n=11)</i>	0	23.1 ± 2.8*	42.3 ± 3.6	-	-	-	-	-
E₂ 10µg								
<i>CON (n=9)</i>	0++	72.5 ± 9.3++	640.8 ± 22.5+	-	-	-	-	-
<i>CLI (n=11)</i>	0*	16.8 ± 2.9**	91 ± 4.5**	-	-	-	-	-
E₂ 5µg+ DHT								
<i>CON (n=11)</i>	2.8 ± 0.8	25 ± 2.7+	26 ± 2.5+	251 ± 8.9+	2 ± 1.3	7 ± 1.3	0.8 ± 0.1+	312 ± 6.8+
<i>CLI (n=8)</i>	2.4 ± 1.05*	17 ± 3.6**	36.6 ± 3.4	449.9 ± 13.3*	7.1 ± 1.8*	10.7 ± 1.3**	0.6 ± 0.1*	314.7 ± 7.1*
E₂ 10µg+ DHT								
<i>CON (n=10)</i>	2.6 ± 0.7	8.6 ± 2.3	10.1 ± 2.4+	362 ± 10.5+	7.5 ± 1.6	9 ± 1.4+	0.5 ± 0.08	338.5 ± 6.05++
<i>CLI (n=11)</i>	3.5 ± 0.7*	23 ± 3.1*	29.7 ± 3.1	260 ± 12.6**	3.7 ± 1.6**	6.2 ± 1.6	0.7 ± 0.1**	211 ± 10.3**

Abreviaturas: FE= frecuencia de eyaculación, LM= latencia de monta, LI= latencia de intromisión, LE= latencia de eyaculación, NM= número de montas, NI= número de intromisiones, HR= hit rate o tasa de aciertos, PR= periodo refractario. Kruskal Wallis, Media (n= 4-11) ± E.E.M, * p< 0.005, ** p< 0.001 vs. CLI SHAM, + p< 0.005, ++ p< 0.001 vs. CON SHAM.

7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los presentes resultados muestran que el tratamiento neonatal con CLI induce alteraciones en el despliegue de las conductas en la PNF, incrementando significativamente la conducta de inmovilidad y disminuyendo el nado. Dichas alteraciones en la PNF se revierten con la administración de 8-OH-DPAT, un agonista del receptor 5-HT_{1A} el cual provoca una disminución en la conducta de inmovilidad y un incremento de la conducta de nado. Por otro lado, el tratamiento neonatal con CLI provoca una disminución de la expresión del ARNm para el receptor 5-HT_{1A} en el núcleo del rafé que se acompaña de un incremento en la expresión del ARNm para este receptor en hipotálamo e hipocampo. Además nuestros resultados corroboran las alteraciones que el tratamiento neonatal con CLI produce sobre la CSM, al inducir una disminución del porcentaje de individuos que presentan intromisiones y eyaculaciones, así también afecta severamente algunos de los parámetros copulatorios, incrementando de manera significativa la latencia de monta, de intromisión y de eyaculación y disminuyendo la frecuencia de eyaculación. La administración de E₂ en combinación con DHT revierte las alteraciones provocadas por el tratamiento neonatal con CLI sobre la CSM, disminuyendo las latencias de monta, intromisión y eyaculación, además de incrementar la frecuencia de eyaculación.

Las ratas tratadas neonatalmente con CLI muestran en la edad adulta diferentes alteraciones conductuales entre las que podemos citar una disminución en la conducta sexual masculina (Neill, 1990; Vogel, *et al.*, 1996; Bonilla-Jaime, *et al.*, 1998; Bonilla-Jaime; *et al.*, 2003b), incremento en la agresividad y locomoción en campo abierto, anormalidades en el sueño MOR (Vogel, *et al.*, 1975; Vogel, *et al.*, 1982; Vogel, *et al.*, 1990a, 1990b, 1990d; Feng y Ma, 2002), disminución en la ingesta de alimento y en la búsqueda de conductas recompensantes (Neill, 1990; Vogel, *et al.*, 1990c), así como un incremento de la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado (Velázquez-Moctezuma y Díaz-Ruiz, 1992; Bonilla-Jaime *et al.*, 1998; Vázquez-Palacios, *et al.* 2005) como se logro corroborar en el presente trabajo. Muchas de estas conductas son reguladas por el sistema serotoninérgico.

La 5-HT está implicada en la regulación y adecuado despliegue de conductas como ingesta de alimento, saciedad, conducta sexual, ciclos sueño-vigilia, estado de ánimo y agresión entre otras (Curzon, 1988). Diferentes estudios acerca del

neurodesarrollo en rata han mostrado que las neuronas serotoninérgicas del tallo cerebral son las primeras neuronas en diferenciarse y juegan un papel clave en la regulación de la neurogénesis (Azmitia, 2001), así se ha propuesto que la 5-HT actúa como una señal en la proliferación, diferenciación y apoptosis celular (Azmitia, 2001), así como un efecto trófico en el cerebro, es decir, permite el desarrollo de los axones hacia sus correctos sitios de sinapsis (Lauder, 1990). Se ha observado que durante el desarrollo, los niveles de 5-HT y del ARNm de la triptófano hidroxilasa se incrementan hasta 35 veces en el núcleo de rafe dorsal entre los días 18 y 22 postnatal. En el caso del transportador de 5-HT, como de diferentes receptores serotoninérgicos, se observan un incremento en sus niveles desde etapas perinatales hasta alcanzar los niveles de un individuo adulto aproximadamente durante la tercera semana de vida posnatal, periodo que se ha relacionado fuertemente con la aparición de la sinaptogénesis (Igy-May, *et al.*, 1994; Jacobs y Azmitia, 1992). Además, se ha observado que la presencia de 5-HT mejora la sobrevivencia de las neuronas y acelera la diferenciación y mielinización de axones (Jacobs y Azmitia, 1992). La 5-HT también puede ejercer un efecto inhibitorio, limitando el crecimiento de conos sinápticos y la ramificación de axones (Jacobs y Azmitia, 1992). Se ha propuesto que los receptores 5-HT_{1A} ubicados en la glía influyen sobre el neurodesarrollo por estimulación de la liberación del factor neurotrófico S-100 β , una proteína que modula la diferenciación de neuronas neocorticales y serotoninérgicas (Whitaker-Azmitia, 1991). Así, se ha observado que manipulaciones de este sistema de neurotransmisión en la etapa neonatal provoca deficiencias en el crecimiento neuronal, la sinaptogénesis, la maduración de otros sistemas de neurotransmisión y finalmente sobre la conducta de la rata adulta (Whitaker-Azmitia y Azmitia, 1986; Whitaker-Azmitia, 1991). En este contexto, la administración de pargilina (inhibidor no específico de la MAO) sobre un cultivo de neuronas serotoninérgicas a los días 14-18 de vida posnatal, inhibe el crecimiento de dichas neuronas (Whitaker-Azmitia y Azmitia, 1986), además la depleción en la producción de 5-HT durante la etapa neonatal por medio de la administración de para-clorofenilalanina (PCPA) induce una disminución permanente en la densidad de espinas dendríticas en el giro dentado del hipocampo (Yan, *et al.*, 1997), generando una disminución en la sinaptogénesis lo que provoca un severo déficit cognitivo en la edad adulta (Mazer, *et al.*, 1997). En el presente trabajo la administración de CLI, un inhibidor de la recaptura de 5-HT en el periodo crítico de desarrollo (del día 12 al 20 posnatal), parece alterar la maduración del sistema 5-HT, por consiguiente afectar su función en el neurodesarrollo,

dando como resultado las diferentes alteraciones fisiológicas y conductuales observadas en la edad adulta en el modelo de depresión (Vogel *et al.* 1990c), viéndose afectado el despliegue conductual en el patrón copulatorio (Feng y Vogel, 2001) y de la PNF (Velázquez-Moctezuma y Díaz-Ruiz, 1992; Vázquez-Palacios, *et al.* 2005) entre otras.

Los presentes resultados muestran que el tratamiento neonatal con CLI induce un incremento significativo en la conducta de inmovilidad en la PNF, que se acompaña de una disminución del nado y una tendencia a disminuir el escalamiento. Estos resultados concuerdan con datos descritos previamente en ratas tratadas con CLI sometidas a la PNF en la edad adulta (Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992; Bonilla-Jaime *et al.*, 1998; Vázquez-Palacios, *et al.* 2005). Un efecto similar se observó también, cuando se administró neonatalmente un inhibidor selectivo de la recaptura de 5-HT; el LU 10-134C, induciendo un importante aumento de la inmovilidad y un decremento en el nado en la PNF (Hansen, *et al.* 1999). Dichos cambios podrían estar reflejando una alteración de sistemas de neurotransmisión implicados en la etiología de la depresión, de manera particular en el sistema serotoninérgico.

Estas alteraciones en el despliegue de las conductas en la PNF nos ofrecen indicios de qué sistemas de neurotransmisión podría estar afectando el tratamiento neonatal con CLI. En la PNF las ratas CLI muestran un incremento en la inmovilidad y disminución de la conducta de nado, patrón de respuesta que se ha relacionado con la actividad del sistema serotoninérgico (Vázquez-Palacios, *et al.* 2005). Así tenemos que en la PNF, diferentes clases de antidepresivos administrados en la edad adulta inducen una disminución de la inmovilidad y la evaluación de esta conducta se acompaña de la evaluación de las conductas de nado y escalamiento, estas últimas se modifican en respuesta a diferentes tipos de fármacos antidepresivos (Detke, *et al.*, 1995). Dichas modificaciones conductuales, encontradas en respuesta a diferentes clases de antidepresivos dan sustento para suponer el posible mecanismo por el cual podrían estar ejerciendo su efecto. Así, fármacos que incrementan la actividad del sistema serotoninérgico, como los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (fluoxetina y sertralina), disminuyen la conducta de inmovilidad incrementando selectivamente la conducta de nado. Acorde con lo anterior, se ha reportado que las ratas tratadas neonatalmente con CLI presentan una disminución en los niveles de 5-HT en áreas como: corteza, hipotálamo, septum e hipocampo (Feenstra *et al.*, 1996; Vijayakumar y Meti, 1999). Además, ratas tratadas neonatalmente con CLI muestran un incremento en el metabolismo de la 5-HT en el tallo cerebral (Hilakivi, *et al.* 1995),

aunado a una disminución en la expresión del transportador de la 5-HT en el núcleo del rafe dorsal (Hansen y Mikkelsen, 1998) y una disminución de la tasa de disparo neuronal en este núcleo (Yavari, *et al.*, 1993), indicando que el tratamiento neonatalmente con CLI altera diferentes componentes del sistema serotoninérgico. De ahí que, los presentes resultados sugieran que el tratamiento neonatal con CLI induce alteraciones en el sistema serotoninérgico y estas alteraciones se reflejan en la PNF al presentar un incremento en la conducta de inmovilidad y una disminución en la conducta nado.

En el presente estudio, dichas alteraciones conductuales en la PNF provocadas por el tratamiento neonatal con CLI se logran revertir con la administración de 8-OH-DPAT el cual disminuye significativamente la inmovilidad e incrementa la conducta nado. Reportes previos indican que el agonista selectivo del receptor 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, posee un efecto antidepresivo en algunos modelos animales de depresión como la prueba de desamparo aprendido y la PNF (Martin *et al.*, 1990; Martínez-Mota *et al.*, 2002; Wieland y Lucki, 1990). En este sentido, la administración de diferentes agonistas del receptor 5-HT_{1A} (8-OH-DPAT, bupiriona, indorenato e ipsapirona) a animales intactos muestran un marcado efecto antidepresivo en la PNF (Lucki y Wieland, 1990), provocando un efecto muy similar al producido por ISRS al reducir la inmovilidad e incrementar el nado. Sin embargo, fármacos como el 8-OH-DPAT reducen la inmovilidad en un plazo mucho menor y con una magnitud mucho mayor que los ISRS, por lo que ha sido propuesto como un antidepresivo de acción rápida (De Vry, *et al.*, 2004). Diversos estudios indican que el 8-OH-DPAT produce efecto antidepresivo bajo diferentes esquemas de tratamiento: agudo (Cervo y Samanin, 1987), subcrónico (Martínez-Mota, *et al.*, 2002, Estrada-Camarena, *et al.*, 2006) y crónico (Cervo y Samanin, 1987) sin cambios en la eficacia para reducir la inmovilidad. Los presentes resultados muestran que un esquema de administración subcrónico (48, 24 horas y 30 minutos antes de la PNF) utilizado por nosotros, es igualmente efectivo al empleado por el grupo de Martínez-Mota y cols (2002), cuyo esquema de tratamiento es de 23.5, 5 y 1 hora antes de la PNF de 5 minutos.

Por otro lado, existen evidencias que han señalado que el receptor 5-HT_{1A} tiene un papel importante en la depresión, puesto que fármacos agonistas de dicho receptor o ISRS inducen la desensibilización del receptor 5-HT_{1A}. La reducida función del autoreceptor 5-HT_{1A} por desensibilización resulta en un incremento de la neurotransmisión serotoninérgica. Estudios recientes indican que parte de esta

desensibilización opera vía down regulation (regulación a la baja) del receptor, proponiendo que la estimulación constante puede provocar que muchos receptores sean internalizados al citoplasma por la neurona y que los pocos que quedan en el botón sináptico no sean funcionales (Mann, 1999; Albert y Lemonde, 2004). Además, se ha reportado que el 8-OH-DPAT actúa como agonista total para los receptores presinápticos en el núcleo del rafe y parcial para receptores postsinápticos (Blier y Montigny, 1990).

Por otro lado, está ampliamente reportado que los receptores 5-HT_{1A} presinápticos se desensibilizan ante la activación sostenida por agonistas, sin embargo los receptores postsinápticos permanecen normosensibles (Blier y Montigny, 1987), indicando que son los receptores presinápticos los responsables del efecto antidepressivo del 8-OH-DPAT cuya acción sobre dichos receptores los desensibiliza, dando como resultado un incremento de la liberación de 5-HT por parte del núcleo del rafe hacia las terminales sinápticas (corteza, hipocampo, hipotálamo, etc.), sin embargo, se requieren estudios más detallados acerca del papel de los receptores pre y postsinápticos en el efecto antidepressivo del 8-OH-DPAT.

Estudios en modelos animales de depresión muestran que la sensibilidad del receptor 5-HT_{1A} ante la administración de 8-OH DPAT se encuentra alterada. Así, en las ratas Flinders un modelo genético de depresión, muestran una respuesta exacerbada ante la administración de 8-OH-DPAT en la prueba de generación de hipotermia (Osterlund, *et al.*, 1999; Shayit, *et al.*, 2003). Por el contrario, las ratas Wistar-Kyoto, presentan una baja respuesta a la administración de antidepressivos y otros fármacos serotoninérgicos, incluyendo el 8-OH-DPAT en la PNF, mostrando una resistencia a disminuir la inmovilidad e incrementar la conducta de nado (López-Rubalcaba y Lucki, 2000). Los presentes resultados indican que en el caso de las ratas tratadas neonatalmente con CLI, el receptor 5-HT_{1A} responde normalmente ante la administración de 8-OH-DPAT, ya que reduce la inmovilidad e incrementa el nado llegando a niveles similares a los observados en sus controles tratados con solución salina, lo que sugiere que el tratamiento neonatal con CLI no altera la funcionalidad del receptor 5-HT_{1A} en estructuras que participan en las conductas evaluadas en la PNF.

De acuerdo a nuestros resultados, el tratamiento neonatal con CLI induce cambios permanentes en la expresión del ARNm del receptor 5-HT_{1A}, al provocar una disminución en los receptores presinápticos en el núcleo del rafe, además de incrementar la expresión de los receptores postsinápticos ubicados en el hipotálamo e

hipocampo. Se sabe que en la edad adulta el tratamiento crónico con diferentes fármacos antidepresivos ISRS (fluoxetina, flesinoxan) induce una disminución en el ARNm del receptor 5-HT_{1A} en hipocampo, corteza y núcleo del raqué en modelos animales de depresión y pacientes deprimidos (Welner, *et al.*, 1989; Fanelli y McMonagle-Strucko, 1992; Sibug, *et al.*, 1998; Le Poul, *et al.*, 2000; Berney, *et al.*, 2008). Además, la administración crónica (8 semanas) con fluoxetina y paroxetina en ratas disminuye la expresión del ARNm para el receptor 5-HT_{1B} en el núcleo del raqué (Anthony, *et al.*, 2000), lo cual indica que la administración de ISRS es capaz de regular la expresión de receptores implicados en la depresión en la edad adulta. Nuestros resultados ofrecen evidencias de que estos fármacos antidepresivos son capaces de modificar la transcripción de algunos receptores serotoninérgicos también en períodos postnatales.

Por otro lado, se sabe que durante las tres primeras semanas de vida posnatal se da un pico de expresión de los diferentes receptores serotoninérgicos en diferentes áreas y esta variación en las densidades de algunos receptores serotoninérgicos resulta en diferentes acciones de la 5-HT en el SNC. Durante el desarrollo, se da un incremento progresivo en la densidad de receptores 5-HT_{1A} en hipocampo, septum y corteza cerebral llegando a los niveles de un adulto alrededor de la tercera semana de vida posnatal, en contraste otras áreas como el cerebelo muestran una disminución progresiva durante este mismo período (Daval, *et al.*, 1987). La administración neonatal de CLI durante el período crítico de expresión de los receptores serotoninérgicos, afecta la maduración de este sistema de neurotransmisión lo cual se traduce en cambios en la expresión del receptor 5-HT_{1A}. Sin embargo, aún queda por dilucidar si existen cambios sobre la expresión de otros receptores como el 5-HT_{1B}, ya que como ya se mencionó arriba, durante las 3 primeras semanas de vida posnatal se alcanzan los niveles definitivos de expresión para los receptores serotoninérgicos. Actualmente existen evidencias que apoyan esta propuesta, ya que; cambios en la expresión del receptor 5-HT_{1A} podrían provocar cambios compensatorios sobre otros receptores o algunas enzimas para equilibrar al sistema. Por ejemplo, ratones *knock out* (KO) para el receptor 5-HT_{1A} muestran un fenotipo de comportamiento ansioso (Olivier, *et al.*, 2001). En este ratón se pierden tanto los receptores presinápticos como los postsinápticos, por lo que se sugiere que dicho déficit podría manifestarse como una desregulación o un incremento del tono serotoninérgico con una señalización y cinética alteradas principalmente en el núcleo del raqué (Sibille y Hen, 2001). Sin embargo, las

cantidades de 5-HT son idénticas entre los ratones KO y el control, no obstante los ratones KO muestran un incremento en los metabolitos de 5-HT en rafé (Ase, *et al.*, 2000), dando como resultado una liberación normal de 5-HT en la postsinápsis, pero un incremento del metabolismo de este neurotransmisor a nivel presináptico (Sibille y Hen, 2001). Así también, en ratones KO para el receptor 5-HT_{1A} se observa un incremento en la expresión del receptor 5-HT_{1B} en las terminales del núcleo del rafé como un efecto compensatorio (Ramboz, *et al.*, 1998). Alternativamente otros neurotransmisores se pueden estar autocompensando para mantener su liberación en terminales serotoninérgicas. (Sibille y Hen, 2001). La ausencia de un receptor durante el desarrollo puede llevar a la pérdida de maduración de vías neurales o adaptaciones de otros sistemas (Sibille y Hen, 2001), así también el cambio en la expresión de algunos receptores, como el 5-HT_{1A} podrían estar generando cambios compensatorios en el resto de los receptores e incluso en otros sistemas de neurotransmisión. Por ejemplo, se sabe que en otro modelo de depresión, la línea sensible de ratas Flinders se presenta una disminución de la densidad del receptor 5-HT_{1A} en áreas como corteza frontal, motora y visual, por el contrario se observa un incremento de la densidad del receptor 5-HT_{1B} en áreas como rafé dorsal, hipotálamo e hipocampo (Nishi, *et al.*, 2009). En esta misma línea, estudios recientes muestran que ratones KO para el receptor 5-HT_{1B} muestra una disminución de la densidad del receptor 5-HT_{1A} en rafé dorsal, corteza frontal, hipocampo y corteza visual; así como una disminución de la sensibilidad del mismo a la administración de agonistas en la prueba de disminución de vocalizaciones ultrasónicas. También se observa un incremento en la sensibilidad del receptor GABA_A a agonistas como el diazepam (El-Khodori, *et al.*, 2004). Sugiriendo que ante la falta del receptor se dan cambios adaptativos tanto en el sistema serotoninérgico como fuera de él, en este caso en el sistema GABAérgico, lamentablemente existe poca información acerca de los efectos de la manipulación del sistema serotoninérgico sobre otros sistemas por lo que resulta necesario analizar otros cambios que se pudieran estar generando por el tratamiento neonatal con CLI, en el propio sistema serotoninérgico y en otros sistemas de neurotransmisión.

En cuanto a la expresión del receptor relacionada con trastornos depresivos en humanos y modelos animales existen resultados contradictorios. En humanos la mayoría de los estudios reportan una reducción del receptor 5-HT_{1A} en corteza prefrontal y temporal en pacientes con depresión mayor (Sargent, *et al.*, 2000). En contraste, los receptores presinápticos ubicados en el núcleo del rafé se incrementan en pacientes

depresivos y en tejido postmortem de pacientes depresivos víctimas de suicidio (Parsey, *et al.*, 2006; Boldrini, *et al.*, 2008). Por el contrario otros trabajos han reportado la reducción de sitios de unión a $[H]^3$ 8-OH-DPAT en núcleo del rafe, sugiriendo una disminución de neuronas 5-HT (Drevets, *et al.*, 2007). Estas alteraciones del receptor en el núcleo del rafe podrían ser consistentes con una reducción de la neurotransmisión serotoninérgica. En este sentido, la disminución de receptores observada en el núcleo del rafe en las ratas tratadas neonatalmente con CLI podría responder, como ya se menciono, a una disminución en el número de neuronas serotoninérgicas en esta área. A este respecto, no se han realizado estudios acerca de la neurotoxicidad que podría tener dicho tratamiento en esta etapa y su efecto sobre la cantidad neuronas en diferentes regiones cerebrales.

En cuanto a la expresión del ARNm para el receptor 5-HT_{1A} postsináptico ubicado en hipotálamo e hipocampo se observa un incremento significativo en el grupo tratado neonatalmente con CLI con respecto al control salino. Dichos resultados contrastan con lo reportado para otros modelos animales como la línea sensible de ratas Flinders, las cuales muestran un incremento moderado en el número de receptores y ninguna diferencia en la expresión del ARNm para el receptor 5-HT_{1A} en corteza frontal, hipotálamo y amígdala (Osterlund, *et al.*, 1999; Shayit, *et al.*, 2003). En modelos de depresión generados por estrés se ha reportado que existe una disminución de la expresión de la proteína para este receptor en el giro dentado del hipocampo (Wang, *et al.*, 2009). Dicha disminución puede revertirse con la administración de antidepresivos como el citalopram (Wang, *et al.*, 2009). Se ha sugerido que la hipofunción del sistema serotoninérgico presente en la depresión podría ser causada por alteraciones en el neurodesarrollo que en la edad adulta provoca un incremento en el número de neuronas en el núcleo del rafe dorsal (Underwood, *et al.*, 1999), las cuales parecen tener una disminución en su función, efecto que se refleja en disminución en la disminución de las concentraciones de 5-HT en el tallo cerebral y el núcleo del rafe (Meltzer y Martin, 1987; Jans, *et al* 2006) e incremento en los sitios de unión para el receptor 5-HT_{1A} en corteza y tallo cerebral, (Welner, *et al.*, 1989; Fanelli y McMonagle-Strucko, 1992; Sibug, *et al.*, 1998; Le Poul, *et al.*, 2000; Berney, *et al.*, 2008) entre otras. En este contexto podríamos suponer que una hipofunción del sistema serotoninérgico podría estar provocando cambios compensatorios como un incremento en la expresión del receptor 5-HT_{1A} postsináptico ubicados en el hipocampo y el hipotálamo observados en el presente trabajo. De acuerdo con su localización (pre o

postsináptica) los receptores 5-HT_{1A} ejercen diferentes efectos sobre el estado funcional del sistema serotoninérgico. La estimulación de los receptores presinápticos inhibe al sistema 5-HT, por otro lado la estimulación de los receptores postsinápticos provoca el efecto típico de una activación funcional del sistema (Popova, *et al.*, 2005). Así, la pérdida del receptor tanto presináptico como postsináptico induce un fenotipo ansioso (Olivier, *et al.*, 2001), otros estudios muestran que la interrupción de la expresión del receptor 5-HT_{1A} postsinápticos (hipocampo y corteza) provoca que los animales muestren una conducta ansiosa (Gross, *et al.*, 2002) proponiendo que los receptores ubicados en las terminales serotoninérgicas son los responsables de este comportamiento. Por otro lado, ratones con un incremento del 30% en la expresión del autoreceptor presentan un incremento en la tasa de disparo neuronal en el núcleo del rafe, conjuntamente con una disminución en la liberación de 5-HT y un incremento en el comportamiento depresivo (Richardson-Jones, *et al.*, 2010). En este sentido, la disminución en la expresión del receptor 5-HT_{1A} en las ratas tratadas con CLI, deberían presentar un incremento en la liberación de 5-HT, sin embargo existen evidencias de que en este modelo se presenta una disminución de los niveles de 5-HT en corteza frontal, hipocampo, tallo cerebral, hipotálamo y septum (Vijayakumar y Meti, 1999), lo cual no concuerda con los resultados obtenidos respecto a la expresión del receptor. Al respecto, se podría sugerir que la expresión del ARNm no siempre representa la expresión de la proteína ya que al ser un receptor membranaral sufre varias modificaciones post-traduccionales que podrían estar modificando dicha expresión. O bien que, existan cambios en la expresión de otros componentes del sistema serotoninérgico como el receptor 5-HT_{1B}, la enzima triptófano hidroxilasa o incluso reguladores transcripcionales del receptor 5-HT_{1A}.

Por otro lado, además de causar diversas alteraciones sobre el sistema serotoninérgico, el tratamiento neonatal con CLI provoca un deterioro de la CSM. Nuestros datos muestran que el tratamiento neonatal con CLI disminuye el porcentaje de individuos que despliegan intromisiones y eyaculaciones, sin alterar significativamente el porcentaje de individuos que montan. En el caso de los machos que presentan CSM, el tratamiento neonatal deteriora la conducta sexual al producir un marcado aumento en la latencia de monta, intromisión y eyaculación y disminución en la frecuencia de eyaculación. Existen numerosos reportes que indican que la administración neonatal de CLI altera la CSM en la edad adulta (Neill, *et al.*, 1990; Vogel, *et al.*, 1996; Bonilla-Jaime, *et al.*, 1998; Bonilla-Jaime; *et al.*, 2003b). La

administración neonatal de inhibidores selectivos de monoaminas, como zimelidina, imipramina y citalopram, producen en la edad adulta anormalidades en la conducta sexual similares a las producidas por el tratamiento con CLI (Hilakivi, *et al.*, 1995; Maciag, 2006a; 2006b). En este sentido, recientes reportes indican que el déficit copulatorio provocado por la administración neonatal de citalopram (ISRS) es debido a la estimulación del receptor 5-HT_{1B} más que a la del receptor 5-HT_{1A}, ya que al administrar neonatalmente agonistas selectivos tanto del receptor 5-HT_{1B} como del 5-HT_{1A} únicamente el agonista del receptor 5-HT_{1B} (CGB12066B) fue capaz de producir alteraciones sobre la CSM de manera similar a otros ISRS (Maciag, *et al.*, 2006c), indicando el posible mecanismo de acción de la CLI neonatal para producir las alteraciones sobre la CSM.

Por otro lado, dichas modificaciones conductuales pueden ser resultado de cambios a largo plazo en los sistemas de neurotransmisión y en las interacciones entre estos provocados por alteraciones en la maduración cerebral (Simpkins, *et al.*, 1977) que en este caso son debidos a la administración neonatal de CLI. En este sentido es necesario mencionar que la CSM en la rata macho es regulada tanto por factores endocrinos (hormonas sexuales) como neuroquímicos (Moralí, 1998). En el caso de estos últimos tenemos que diversos estudios analizan la participación de estos componentes en la CSM de la rata. Por ejemplo, el sistema noradrenérgico tiene un papel facilitador sobre la CSM, la inhibición de la síntesis de NA inhibe diferentes aspectos de la conducta sexual (Fernández-Guasti, *et al.*, 1986), mientras que la administración de antagonistas adrenérgicos α_1 y β , en el APOM, disminuye la conducta copulatoria. En contraste, el bloqueo de los receptores α_2 -adrenérgicos por yohimbina facilita varios aspectos de la CSM particularmente aspectos motivacionales, como por ejemplo disminución de la latencia de eyaculación y de los intervalos posteyaculatorio e interintromitorio; además incrementa el número de montas e intromisiones (Hull, *et al.*, 2006; Phillips-Farfán y Fernández-Guasti, 2009). En relación a las ratas tratadas neonatalmente con CLI estudios realizados por nuestro laboratorio muestran que la administración de yohimbina (antagonista del receptor α_2) en este modelo de depresión no ejerce su efecto facilitatorio sobre la CSM, al no modificar ninguno de los parámetros conductuales evaluados, por lo que se piensa que el tratamiento neonatal con CLI podría estar alterando al sistema noradrenérgico de forma permanente (Bonilla-Jaime, *et al.*, 1998), sugiriendo que el tratamiento neonatal con CLI además de provocar cambios en la maduración sistema serotoninérgico posiblemente también lo haga en el

sistema noradrenérgico afectando de este modo diferentes componentes regulatorios de la CSM.

Por otro lado, se sabe que el sistema serotoninérgico tiene un papel inhibitorio sobre el despliegue de la CSM (Ahlenius y Larsson, 1997; Phillips-Farfán y Fernández-Guasti, 2009), ya que un incremento en los niveles cerebrales de 5-HT disminuye el número de montas e intromisiones e incrementa la latencia de eyaculación (McIntosh y Barfield, 1984; Hull, et al., 2006; Hull y Domínguez, 2007), además la administración de 8-OH-DPAT disminuye el número de intromisiones y facilita la eyaculación (Fernández-Guasti, *et al.*, 1992; Phillips-Farfán y Fernández-Guasti, 2009). En relación a la información existente sobre la participación del sistema serotoninérgico en la CSM de las ratas tratadas neonatalmente con CLI, se sabe que la administración sistémica de 8-OH-DPAT ejerce un efecto estimulador sobre la conducta copulatoria, revirtiendo las alteraciones sobre la conducta sexual en este modelo al disminuir las latencias de intromisión y eyaculación, el número de montas e intromisiones e incrementar la frecuencia de eyaculación (Bonilla-Jaime, *et al.*, 1998), proponiendo que los receptores 5-HT_{1A} no se encuentran alterados en este modelo. Sin embargo, nuestros resultados muestran cambios en la expresión de dichos receptores tanto presinápticos como postsinápticos. Esto se podría explicar dado que reportes previos de Hull y cols (2006) indican que los efectos estimuladores del 8-OH-DPAT sobre la CSM se dan a través de receptores postsinápticos, datos que se apoyan por la administración de 8-OH-DPAT en APOm y núcleo acumbens donde estimula la CSM, sin obtener efecto cuando se realiza la administración directa sobre núcleo del rafé (Fernández-Guasti, *et al.*, 1992). El incremento en la expresión de los receptores postsinápticos podrían interferir de manera positiva en el efecto del 8-OH-DPAT, ya que se ha especulado que el receptor 5-HT_{1A} ubicado en la postsinápsis, específicamente en áreas límbicas que controlan la conducta sexual está implicado en la facilitación de esta conducta; sin embargo aún no se conoce el mecanismo por el que esta facilitación se podría estar dando. Por el contrario la estimulación del receptor 5-HT_{1B} por agonistas o por la propia 5-HT endógena resulta en la inhibición de la conducta copulatoria (Fernández-Guasti, *et al.*, 1992). También se ha reportado que la administración neonatal de agonistas del receptor 5-HT_{1B} provoca una disminución de la conducta copulatoria en la edad adulta similar a los efectos producidos por la administración neonatal de citalopram (ISRS) (Maciag, *et al.*, 2006c). Lo anterior nos da indicios para suponer que el receptor 5-HT_{1A} no es el único en ser afectado por el tratamiento neonatal con CLI.

Dentro de los factores endocrinos encontramos que la testosterona es el principal andrógeno con un papel primordial sobre el mantenimiento de la CSM, esta hormona se metaboliza principalmente a E_2 y DHT, las cuales en nuestro estudio revierten paulatinamente tanto los efectos de la castración como los del tratamiento neonatal con CLI, al incrementar el porcentaje de individuos que montan, intromiten y eyaculan hasta alcanzar un 100% y además, normaliza e incluso mejora todos los parámetros sexuales evaluados. Nuestros resultados muestran que la castración abole paulatinamente la CSM, las eyaculaciones son el primer componente en desaparecer, tanto en el grupo CLI como en el grupo CON castrados después de 21 días de castración. El porcentaje de intromisiones es el segundo parámetro en desaparecer a los 28 días de castración (día 7 de tratamiento). El último patrón conductual en afectarse es la monta, la cual comienza a disminuir el día 14 de tratamiento en el grupo CON ORQ y en el día 7 en el grupo CLI ORQ y desaparece en el total de los individuos para el día 21. En cuanto a los parámetros copulatorios en el día 7 de tratamiento se observan incrementos significativos en las latencias tanto de monta como de intromisión y estas se incrementan hasta la desaparición de este patrón copulatorio. Esto concuerda con lo reportado en la literatura, ya que se sabe que dentro de los efectos tempranos de la castración se encuentran un retardo para iniciar las respuestas de monta e intromisión (incremento en la latencia de monta e intromisión) y una falla inicial para lograr eyaculaciones, posteriormente pierde la capacidad de realizar intromisiones por lo que el macho finalmente deja de montar a las hembras (Moralí, 1998; González-Pimentel y Hernández-González, 2002). Estos cambios empiezan a presentarse en los individuos castrados luego de 1 o 2 semanas después de la cirugía (González-Pimentel y Hernández-González, 2002). Sin embargo, nuestros resultados muestran que las alteraciones se comienzan a observar desde la tercera semana posterior a la orquidectomía. En este sentido, dichas discrepancias pueden ser atribuidas al hecho de que animales sexualmente expertos son menos susceptibles a los efectos de la castración y otras situaciones adversas para el despliegue de los patrones copulatorios (p ej. lesiones cerebrales y nuevos ambientes). Machos castrados con experiencia previa pueden seguir copulando por varias semanas, aún cuando los niveles hormonales hayan desaparecido del organismo pocas horas después de la castración (Hull, *et al.*, 2006). Por lo que se ha postulado que los circuitos neurales que ya han sido alterados por la experiencia pueden requerir en menor medida de la facilitación hormonal (Carlson, 2004).

El tratamiento con E₂ en ambas dosis logra mantener las conductas de monta y de intromisión en el 100% de los individuos CON en ambas dosis, mientras que en el grupo CLI la dosis de 5 µg logra mantener la monta e intromisión en el 80% de los individuos y de manera más eficiente con la dosis de 10 µg al mantener ambos patrones conductuales en el 100% de los individuos. Sin embargo, el tratamiento con estradiol es incapaz de mantener las eyaculaciones, las cuales van desapareciendo paulatinamente en la mayor parte de los individuos, aunque el tratamiento con E₂ parece amortiguar los drásticos efectos de la castración al menos en el grupo CON, ya que este patrón conductual desaparece más lentamente que en el grupo CLI. Se sabe que la administración de E₂ puede facilitar ciertos aspectos de la conducta sexual en la rata macho (Davidson, 1969; Gorzalka, *et al.*, 1975; Paup, *et al.*, 1975; Sodersten, 1973). Estudios recientes han demostrado que una sola inyección de E₂ puede rápidamente reducir la latencia de monta en animales castrados sexualmente expertos desde los 35 minutos posteriores a la administración (Roselli, *et al.*, 2003). Además que la administración de compuestos estrógenicos como E₂ o estrógenos sintéticos como el dietil estilbestrol pueden mimetizar el efecto de la testosterona en animales castrados (Christensen y Clemens, 1974). Así también, el tratamiento con andrógenos aromatizables como la testosterona o la androstenediona activan la CSM en animales castrados, mientras que los no aromatizables como DHT tienen poco o ningún efecto (McDonald, *et al.*, 1970). Sin embargo, existen reportes que indican que E₂ es incapaz de mantener totalmente la conducta sexual (Mc Ginnis y Dreifuss, 1989; Putman, *et al.*, 2003). Lo cual es consistente con nuestros resultados al observar que únicamente las montas e intromisiones se vieron facilitadas por la administración de esta hormona y que las latencias para ambos parámetros se ven reducidas con respecto a los machos castrados en ambos grupos desde el día 7 de tratamiento. El papel primario de E₂ es estimular la actividad neural en los tejidos que controlan la monta y la intromisión (Baum y Vreeburg, 1973), por lo que se puede pensar que esta hormona estimula la motivación más que la ejecución. Nuestros resultados muestran que la administración de E₂ logra estimular, en ambos grupos ciertos parámetros que tienen que ver con el componente motivacional (latencias de monta e intromisión), los cuales se ven alterados por el tratamiento neonatal con CLI, lo cual sugiere que posiblemente la síntesis o respuesta de esta hormona se alteran por la administración neonatal de CLI.

Diversos estudios analizan la importancia de los estrógenos sobre las conductas reproductivas, así la administración de antiestrógenos como CI-628 bloquea el

despliegue de la copula inducido por la administración de testosterona (Beyer, *et al.*, 1976). Por lo que se ha postulado que la aromatización a nivel neural es un paso crítico tanto en la masculinización perinatal como en el correcto despliegue de la CSM. El ratón KO para aromatasas despliega severas alteraciones de la conducta sexual y la administración de testosterona no mejora dichas alteraciones. Sin embargo, estas se revierten con la administración de E₂ y DHT (Bakker, *et al.*, 2004). Inhibidores de la aromatasas, enzima limitante en la producción de estradiol, como el fadrozole o vorozole bloquean los efectos de la administración de testosterona en machos castrados e inhibe la CSM en machos intactos (Christensen y Clemens, 1988; Morali, *et al.*, 1977), además se sabe que dichos efectos son revertidos por la administración de estrógenos exógenos (Adkins, *et al.*, 1980). La administración de inhibidores de la aromatasas bloquea la expresión de patrones copulatorios (montas, intromisiones y eyaculaciones), así también disminuye las exploraciones olfatorias anogenitales, lo que es referido como un indicador del estado motivacional del individuo (Taziaux, *et al.*, 2007). Además los inhibidores de la aromatasas reducen el aspecto motivacional en la prueba de preferencia de lugar, aspecto que se ve restaurado por la administración de E₂ (Rosselli, *et al.*, 2003), lo que significa que el E₂ podría estar involucrado en la regulación del aspecto motivacional. En este sentido, se ha reportado que la aromatasas posee una alta expresión en áreas implicadas en conductas reproductivas, tales como: amígdala, núcleo del lecho de la estra terminal, hipotálamo y área preóptica media (APOm), esta última se ha vinculado fuertemente con la expresión tanto de aspectos motivacionales, como consumatorios (Balthazart, *et al.*, 2004). En el caso de la participación de los receptores a estrógenos (RE), estudios realizados en ratones KO para el receptor a estrógenos α (ER α KO) muestran que dicho receptor es crítico para la correcta expresión de las conductas copulatorias, ya que se ha observado que estos ratones no copulan hasta eyacular y pocos individuos despliegan montas e intromisiones, además de presentar latencias de monta e intromisión elevadas (Rissman, *et al.*, 1999). Por otro lado, ratones KO para el receptor a estrógenos β (β ERKO) no muestran déficit copulatorio comparado con sus controles (Ogawa, *et al.*, 1999). Esto se puede explicar debido a que RE α se expresa en regiones implicadas en el control de conductas reproductivas como: núcleo del lecho de la estra terminal, amígdala, área preóptica media, núcleo arcuato y tubérculo olfatorio. En contraste, el RE β se expresa principalmente en áreas implicadas en procesos cognitivos o que participan en la regulación del estado de ánimo como el hipocampo o el núcleo del rafé (Shughrue, *et al.*, 1997).

Por el contrario, la administración de ambas dosis de E₂ y de DHT a una dosis de 1 mg pueden facilitar la monta e intromisión desde el día 7 de tratamiento en el 100% de los individuos, del mismo modo puede facilitar las eyaculaciones después de 7 días de administración en el 100% de los individuos del grupo CON y en el grupo tratado neonatalmente con CLI. De igual modo se comienzan a mejorar parámetros copulatorios como latencias de monta e intromisión tanto en machos control como CLI desde el día 7. La frecuencia de eyaculación se iguala al control hasta el día 21. Estos datos concuerdan con los reportados por Larsson y cols (1973) quienes encontraron altos niveles de actividad copulatoria en machos castrados tratados con 5 µg de E₂ y 1 mg de DHT, sugiriendo que ambas hormonas son necesarias para el adecuado despliegue de la conducta sexual en la rata macho. La CSM es dependiente de testosterona en la mayor parte de los vertebrados, esta es secretada por las células de Leydig en los testículos y metabolizada en sus órganos blanco a E₂ por aromatización y a DHT por 5 α reducción (Hull, *et al.*, 2006). Según la teoría de la aromatización el E₂ ha sido propuesto como la hormona clave en la activación de la CSM. Sin embargo, la de E₂ es inefectiva para restablecer todos los aspectos de la copula (Mc Ginnis y Dreifuss, 1989; Putman, *et al.*, 2003). Por otro lado, DHT es un andrógeno no aromatizable y posee una afinidad por los receptores a andrógenos mayor que la de la testosterona, pero es inefectiva para restablecer la copula si se le administra sola (Hull, *et al.*, 2006). En este contexto se sabe que los genitales masculinos tanto internos como externos son andrógeno-dependientes y la DHT es el principal andrógeno que regula la diferenciación crecimiento y función de los genitales masculinos (Luke y Coffey, 1994). Al igual que los patrones motores copulatorios los reflejos inducidos del pene (*ex copula*) se pierden paulatinamente con la castración, perdiéndose las erecciones alrededor de los 12 días de postcirugía (González-Pimentel y Hernández-González, 2002). DHT parece ser necesaria para mantener funciones motoras y sensoriales periféricas que contribuyen al correcto despliegue del patrón copulatorio (Hull, *et al.*, 2006), ya que; contribuye al restablecimiento de los reflejos peneanos aún en ratas con la medula seccionada (González-Pimentel y Hernández-González, 2002). Así, al parecer cuando la testosterona es metabolizada a E₂ este interviene en la conducta copulatoria, mientras que después de su conversión a DHT modula la manifestación de los reflejos peneanos y la sensibilidad a la retroalimentación táctil (González-Pimentel y Hernández-González, 2002).

Es importante hacer notar que el grupo CLI castrado parece verse más afectado por la orquidectomía en sus parámetros copulatorios que el grupo CON, de lo cual podríamos deducir que el tratamiento neonatal con CLI parece hacer a los animales más vulnerables a los efectos de la castración. Además, las ratas tratadas neonatalmente con CLI muestran un incremento en el tiempo de respuesta a hormonas comparado con el grupo control, lo cual podría estar refiriendo a una disminución en la sensibilidad a las hormonas. En este sentido, recientes estudios reportan que existe una disminución en la expresión del ARNm del receptor a estrógenos β (RE- β) en tallo cerebral de pacientes depresivos víctimas de suicidio (Ostlund, *et al.*, 2003). Lo cual podría explicar las respuestas diferentes entre animales tratados neonatalmente con CLI y su control, sin embargo; no existen más reportes que analicen RE- β en pacientes deprimidos o modelos de depresión, aunque no se descarta que sea un factor que podría estar contribuyendo a las alteraciones conductuales de este modelo animal de depresión. Tomando en conjunto esta información y el hecho de que la administración de E₂ exógeno fue capaz de mejorar parámetros como latencias de monta e intromisión que se han implicado en el estado motivacional del individuo, podríamos pensar que el tratamiento neonatal con CLI afecta la conversión de testosterona a E₂. Ambos componentes tanto la respuesta a E₂ como su producción podrían ser objeto de futuros análisis, ya que como se puede observar en los resultados el E₂ está fuertemente implicado en alteraciones conductuales del modelo como ejemplo, la CSM, aunque no se descarta que pudiera estarlo también en la regulación de algunos sistemas de neurotransmisión implicados en la depresión.

Para finalizar ambos componentes tanto endocrinos como neuroquímicos se interrelacionan en el neurodesarrollo y diferenciación sexual del cerebro. Así, tenemos que en las etapas tanto prenatal como neonatal el principal esteroide masculinizante en el cerebro es el estradiol, actuando a través de sus receptores α y β (Mc Ewen y Alves, 1999). Los dimorfismos sexuales dependientes de hormonas esteroides en estructuras cerebrales incluyen diferencias en el volumen de núcleos específicos, variando el grado de arborización dendrítica y de densidad de sinapsis. Estos dimorfismos resultan de la diferenciación sexual de neuronas, de la sobrevivencia y/o plasticidad neuronal (Simerly, 2002). La diferenciación sexual de los sistemas de neurotransmisión están asociados con el desarrollo del dimorfismo sexual en el cerebro y la acción de las hormonas en el mismo (McCarthy, *et al.*, 2002). Por ejemplo, 5-HT antagoniza los efectos masculinizantes neonatales de la testosterona (Wilson, *et al.*, 1992; Wilson, *et al.*, 1998) por lo que la 5-HT participa en la diferenciación sexual. En la rata durante la

segunda semana de vida las concentraciones de 5-HT en hipotálamo son más altas en hembras que en machos y esta diferencia depende de la testosterona. En este periodo la inhibición de la producción de 5-HT por la administración de PCPA, exagera los efectos de la testosterona, mientras que la administración de 5-HT exógena a estas mismas ratas lo normaliza. La 5-HT ejerce un control inhibitorio de la acción neonatal de la testosterona sobre la exploración, locomoción y conducta sexual en la edad adulta (Wilson, *et al.*, 1992). Así también la administración de un agonista del receptor 5-HT₂ en machos durante la segunda semana de vida posnatal puede llevar a un patrón de secreción de hormona luteinizante de hembras (Wilson, *et al.*, 1998). En este sentido, el tratamiento con un antagonista 5-HT₂ tiene efecto sobre el tamaño de núcleos sexualmente dimórficos, tales como el periventricular y el área preóptica (Gorski, *et al.*, 1978; Murray, *et al.*, 2004). Estudios realizados en roedores han reportado que la inyección intraventricular de 5-HT a neonatos en el periodo crítico de diferenciación sexual disminuye las concentraciones plasmáticas de estradiol en hembras, sin alterar las de testosterona en machos (González y Leret, 1992). Por lo que se podría pensar que las manipulaciones realizadas sobre el sistema serotoninérgico mediante la administración neonatal de CLI también podrían estar afectando la correcta secreción de hormonas esteroides en este modelo animal de depresión.

En conclusión, el tratamiento neonatal con CLI afecta el sistema serotoninérgico al alterar la expresión de las conductas evaluadas en la PNF, incrementando la conducta de inmovilidad y disminuyendo la conducta de nado, la cual se ve incrementada por fármacos que mejoran la transmisión serotoninérgica como por ejemplo agonistas del receptor 5-HT_{1A} como el 8-OH-DPAT, el cual en este estudio disminuye la inmovilidad e incrementa el nado a niveles observados también en controles tratados con este fármaco, por lo que podemos suponer que el tratamiento neonatal con CLI no afecta la sensibilidad de receptor 5-HT_{1A}. Sin embargo el tratamiento neonatal modifica la expresión de dicho receptor, disminuyendo la cantidad de ARNm en núcleo del rafé e incrementándolo en hipocampo e hipotálamo afectando por consiguiente las concentraciones normales de 5-HT que es liberada en diferentes áreas cerebrales y por tanto las conductas reguladas por este neurotransmisor, entre las que se encuentran la CSM. La CSM en las ratas tratadas neonatalmente con CLI se ve disminuida a causa de este tratamiento, dicha conducta es regulada por diferentes neurotransmisores entre ellos 5-HT, además se encuentra regulada por diferentes hormonas como lo es la testosterona, la cual se metaboliza a E₂ y DHT, la primera responsable de sus efectos centrales sobre

la conducta copulatoria y DHT responsable del mantenimiento de órganos sexuales. Ambas hormonas administradas en conjunto logran mejorar la conducta sexual alterada en las ratas CLI, razón por la cual se podría suponer que el tratamiento con CLI en etapas neonatales podría alterar la metabolización de testosterona a E₂ o modificar la respuesta a esta hormona por parte de sus receptores.

8. PERSPECTIVAS

- Evaluar la expresión de la proteína para el receptor 5-HT_{1A} en las ratas tratadas neonatalmente con CLI.
- Analizar el estado del componente motivacional en CSM en ratas tratadas neonatalmente con CLI, por medio del paradigma de preferencia de lugar.
- Determinar los niveles plasmáticos de 17β-estradiol (E₂) y DHT en las ratas tratadas neonatalmente con CLI.
- Evaluar el efecto antidepresivo de E₂ en la prueba de nado forzado en ratas tratadas neonatalmente con CLI.
- Evaluar la interacción de E₂ y el receptor 5-HT_{1A} en la prueba de nado forzado en ratas tratadas neonatalmente con CLI.
- Evaluar si se modifica la acción del E₂ sobre la expresión del receptor 5-HT_{1A} en el núcleo del rafe, hipotálamo e hipocampo en las ratas tratadas neonatalmente con CLI.
- Evaluar la expresión del receptor 5-HT_{1A} en otras áreas importantes en la regulación del estado de ánimo como corteza prefrontal y amígdala.
- Analizar el efecto del tratamiento neonatal con CLI sobre otros receptores involucrados en el trastorno depresivo como el 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}.
- Evaluar si el tratamiento neonatal con CLI afecta la expresión de los receptores a estrógenos α y β.
- Evaluar si existen déficits cognitivos en las ratas tratadas neonatalmente con CLI.
- Evaluar si el tratamiento neonatal con CLI produce alteraciones en el sistema noradrenérgico, como por ejemplo la expresión del receptor α₂.

9. REFERENCIAS

- Adkins EK, Boop JJ, Koutnik DL, Morris JB, Pniewski EE. 1980. Further evidence that androgen aromatization is essential for the activation of copulation in male quail. *Physiol Behav* 24:441–446.
- Ahlenius S, Larsson K., 1997. Specific involvement of central 5-HT_{1A} receptors in the mediation of male rat ejaculatory behavior. *Neurochem Res* 22: 1065–1070.
- Akiskal HS. 1995. Mood disorders: introduction and overview. En: Kaplan Hi, Sadok BJ, eds. *Comprehensive textbook of psychiatry*. 6th ed. Baltimore, MD: Lippincott, Williams & Wilkins. pp. 1079.
- Albert P, Lemonde S. 2004. 5-HT_{1A} receptors, gene repression, and depression: Guilt by association. *Neuroscientist* 10 (6): 575-593.
- American Psychiatric Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales- Texto revisado (DSM_IV_TR). 2003. Tomo II Ed. Masson Doyma, México, D.F. pp. 699.
- Anisman H, Du L, Palkovits M, Faludi G, Kovacs GG, Szontagh-Kishazi P. 2008. Serotonin receptor subtype and p11 mRNA expression in stress-relevant brain regions of suicide and control subjects. *J Psychiatry Neurosci* 33: 131-141.
- Anthony JP, Sexton TJ, Neumaier JF. 2000. Antidepressant-induced regulation of 5-HT_{1B} mRNA in rat dorsal raphe nucleus reverses rapidly after drug discontinuation. *J Neurosci Res* 61(1): 82-87.
- Arango V, Ernsberger P, Marzuk PM, Chen J-S, Tierney H, Stanley M. 1990: Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT₂ and -adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 47: 1038-1047.
- Arpels JC. 1996 The females brain hypoestrogenic continuum from the premenstrual syndrome to menopause-A hypothesis and review of supporting data. *J Reprod Med* 41: 633-639.
- Ase AR, Reader TA, Hen R, Riad M, Descarries L. 2000. Altered serotonin and dopamine metabolism in the CNS of serotonin 5-HT_{1A} or 5-HT_{1B} receptor knockout mice. *J Neurochem* 75(6): 2415-2426.
- Azmitia EC. 2001. Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. *Brain Res Bull* 56(5): 413-24.
- Bakker J, Honda S, Harada N, Balthazart J. 2004. Restoration of male sexual behavior by adult exogenous in male aromatase knockout mice. *Horm Behav* 46: 1-10.
- Balthazart J, Baillien M, Cornil CA, Ball G. 2004. Preoptic aromatase modulates male sexual behavior: slow and fast mechanisms of action. *Physiol Behav* 83: 247-270.
- Baum MJ, Vreeburg JTM. 1973. Copulation in castrated male rats following combined treatment with estradiol and dihydrotestosterone. *Science* 182: 283-285.
- Bear MF, Connors B, Paradiso M. 2008. Neuronas serotoninérgicas. En: *Neurociencia: la exploración del cerebro*. 3ª ed. Barcelona, España. Lippincott, Williams & Wilkins. pp. 146.

- Belló M, Puentes-Rosas E, Medina-Mora ME, Lozano R. 2005. Prevalencia y diagnóstico de depresión en población adulta en México. *Salud Publica* 47: 4-11.
- Benjet C, Borges G, Medina-Mora ME, Fleiz-Bautista C, Zambrano-Ruiz J. 2004. La depresión con inicio temprano: prevalencia curso natural y latencia para buscar tratamiento. *Salud Publica* 46: 417-424.
- Berney A, Nishikawa M, Benkelfat C, Debonnel G, Gobbi G, Diksic M. 2008. An index of 5-HT synthesis changes during early antidepressant treatment: alpha-[(11)C]methyl-ltryptophan PET study. *Neurochem Int* 52: 701-708.
- Berton O, Nestler EJ. 2006. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci* 7: 137-51.
- Beyer C, Morali G, Naftolin F, Larsson K, Perez-Palacios G. 1976. Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen-induced sexual behavior in castrated male rats. *Horm Behav* 7: 353-363.
- Blaustein JD. 1992. Cytoplasmic estrogen receptors in the rat brain: immunocytochemical evidence using three antibodies with distinct epitopes. *Endocrinology* 131: 1336-1342.
- Blier P, Montigny C. 1987. Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of 5-HT_{1A} agonist gepirone: Electrophysiological studies in the rat brain. *Synapse* 1: 470-480.
- Blier P, Montigny C. 1990. Differential effect of gepirone on presynaptic and postsynaptic serotonin receptors: single cell recording studies. *J Clin Psychopharmacol* 10(3): 13-20.
- Blier P, Ward N. 2003. Is there a role for 5-HT_{1A} receptor agonist in treatment of depression? *Biol Psychiatry* 53: 193-203.
- Blier P. 2001. Possible neurobiological mechanism underlying faster onset of antidepressant action. *J Clin Psychiat* 62: 7-11.
- Boldrini M, Underwood MD, Mann JJ, Arango V. 2008. Serotonin-1A autoreceptor binding in the dorsal raphe nucleus of depressed suicides. *J Psychiat Res* 42:, 433-442.
- Bonilla Jaime H, Orozco Gregorio H, Muñoz Gutiérrez M, Arteaga Silva M, Vázquez Palacios G. 2008. Efectos de fármacos antidepresivos sobre el neurodesarrollo. En: Perinatología y ginecología animal: enfoques clínicos y experimentales. Mota Rojas D, Nava Ocampo AA, Villanueva García D, Alonso Spilsbury ML (Coords.). BM Editores, México. pp. 27-35.
- Bonilla-Jaime H, Limón-Morales O, Arteaga-Silva M, Hernández-González M, Guadarrama-Cruz G, Alarcón-Aguilar F, Vázquez-Palacios G. 2010a. Orchidectomy modifies the antidepressant-like response of nicotine in the forced swimming test. *Physiol Behav* 101: 456-461.
- Bonilla-Jaime H, Retana-Márquez S, Arteaga-Silva M, Hernández-González M, Vázquez-Palacios G. 2010b. Circadian activity of corticosterone in an animal model of depression: Response to muscarinic cholinergic stimulation. *Physiol Behav* 100: 311-315.
- Bonilla-Jaime H, Retana-Marquez S, Velazquez-Moctezuma J. 1998. Pharmacological features of masculine sexual behavior in an animal model of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 60: 39-45.

- Bonilla-Jaime H, Retana-Márquez S, Vázquez-Palacios G, Velázquez-Moctezuma J. 2003a. Corticosterone and testosterone levels after chronic stress in an animal model of depression. *Neuropsychobiol* 48: 55-58.
- Bonilla-Jaime H, Retana-Márquez S, Vázquez-Palacios G, Velázquez-Moctezuma J. 2003b. Plasma levels of corticosterone and testosterone after sexual activity in male rats treated neonatally with clomipramine. *Behav Pharmacol* 14 (4): 357-361.
- Brailowsky S. 1995. Las sustancias de los sueños: neuropsicofarmacología, 3ª edición, México, FCE/SEP/ CONACYT. pp. 80-84.
- Bunney WE, Bunney BG. 2000. Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression. *Neuropsychopharmacol* 22 (4): 335-345.
- Cabeza-Salinas M. 2006. Cuadernos: Hormonas y Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana –Xochimilco. pp. 25-29.
- Carlson NR. 2004. Fisiología de la conducta. 8ª ed. Ed. Pearson-Adison Wesley pp. 758.
- Cervo L, Samamin R. 1987. Potential antidepressant properties of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin, a selective serotonin_{1A} receptor agonist. *Mol Psychiatry* 14(2): 223-229.
- Christensen LW, Clemens LG. 1974. Intrahypothalamic implants of testosterone estradiol and resumption of masculine sexual behavior in long-term castrated male rats. *Endocrinol* 4: 984-990.
- Christensen LW, Clemens LG. 1988. Blockade of testosterone-induced mounting behavior in the male rat with intracranial application of the aromatization inhibitor, androst-1,4, 6-triene-3,17-dione. *Endocrinol* 97: 1545-1551.
- Contreras CM, Saavedra-Vélez M, Rodríguez-Landa JF, Bernal-Morales B, Gutierrez-García AG. 2002. Neuroquímica de la motivación y la emoción. En: Hernández-González ed. Motivación animal y humana. 1ª ed. Manual moderno. pp. 39-64.
- Cook SC, Wellman CL. 2004. Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *J Neurobiol*. 60: 236-248.
- Cross E, Roselli CE. 2007. 17 β -estradiol rapidly facilitates chemoinvestigation and mounting in castrated male rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 276: 1346-1350.
- Cryan J, Leonard B. 2000. 5-HT_{1A} and beyond: the role of serotonin and its receptors in depression and the antidepressant response. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 15: 113-135.
- Cryan JF, Markou A, Lucki I. 2002. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 23: 238-245.
- Curzon G. 1988. Serotonergic mechanism of depression. *Clin Neuropharmacol* 11(2): 11-20.
- Cutter WJ, Norbury R, Murphy DGM. 2003. Oestrogen, brain function, and neuropsychiatric disorders. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 74: 837-840
- Czeh B, Müller-Keuker JI, Rygula R. 2007. Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacol* 32: 1490-1503.

- Dahlman-Wright K, Cavailles V, Fuqua SA, Jordan VC, Katezellenbogen JA, Korach KS, Maggi A, Muramatsu M, Parker MG, Gustafson J. 2006. International union of pharmacology. LXIV. Estrogen receptors. *Pharmacol Rev* 58: 773-781.
- Daval G, Verge D, Becerril A, Gozlan H, Spampinato U, Hamon M. 1987. Trascient expression of 5-HT_{1A} receptor binding sites in some areas of the rat CNS during posnatal development. *Int J Develop Neurosc* 5 (3): 171-180.
- Davidson JM. 1969. Effects of estrogen on the sexual behavior of male tats. *Endocrinol* 84: 1365-1372.
- De Vry J, Schreiber R, Melon C, Dalmus M, Jentzsch KR. 2004. 5-HT_{1A} receptors are differentially involved in the anxiolytic- and antidepressant-like effects of 8-OH-DPAT and fluoxetine in the rat. *Eur Neuropsych* 14: 487-495.
- Delaunay F, Pettersson K, Tujague M, Gustafsson JA. 2000. Functional differences between the amino-terminal domains of estrogen receptors alpha and beta. *Mol Pharmacol* 50: 584-590.
- Detke, MJ, Rickels M, Lucki I. 1995. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacol* 121: 66-72.
- Dixon AK. 1998. Ethological strategies for defense in animal and humans: their role in some psychiatric disorders. *Brit J Med Psychology* 71: 417-445.
- Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, Greer PJ. 2000. Serotonin type-1A receptor imaging in depression. *Nucl Med Biol* 27(5): 499-507.
- Drevets WC, Thase ME, Moses-Kolko EL, Price J, Frank E, Kupfer DJ, Mathis C. 2007. Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl Med Biol* 34: 865-877.
- Duman CH. 2010. Models of depression. En: Vitamins and Hormones, Hormones of the Limbic system. Ed. Elsevier Inc. Vol. 81, pp 1-21.
- El-Khodori B, Hernandez-Dimmler M, Amara DA, Hofer M, Hen R, Brunner D. 2004. Juvenile 5HT_{1B} receptor knockout mice exhibit reduced pharmacological sensitivity to 5HT_{1A} receptor activation. *Int J Devl Neuroscience* 22: 405-413.
- Estrada-Camarena E, Fernandez-Guasti A, López-Ruvalcaba C. 2003. Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in forced swimming test. *Neuropsyfarmacol* 28: 830-838.
- Estrada-Camarena E, Fernandez-Guasti A, López-Ruvalcaba C. 2004. Interaction between estrogens and antidepressants in the forced swimming test. *Psychopharmacol* 173: 139-145
- Estrada-Camarena E, Fernandez-Guasti A, López-Ruvalcaba C. 2006. Participation of the 5-HT_{1A} receptor in the. Antidepressant-like effect of estrogens in forced swimming test. *Neuropsyfarmacol* 31: 247-255.
- Estrada-Camarena E, Rivera NM, Berlanga C, Fernández-Guasti A. 2008. Reduction in the latency of action of antidepressants by 17 beta-estradiol in the forced swimming test. *Psychopharmacol* 201: 351-360.
- Fanelli RJ, McMonagle-Strucko K. 1992. Alteration of 5-HT_{1A} receptor binding sites following chronic treatment with ipsapirone measured by quantitative autoradiography. *Synapse* 12: 75-81.

- Feenstra MG, Van Galen H, Te Riele PJ, Botterblom MH, Mirmiran M. 1996. Decreased hypothalamic serotonin levels in adult rats treated neonatally with clomipramine. *Pharmacol Biochem Behav* 55: 647– 652.
- Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. 1997. Principles of Neuropsychopharmacology. Sinauer Associates, Inc., Publishers. pp 345-389.
- Feng P, Ma Y. 2002. Clomipramine suppresses postnatal REM sleep without increasing wakefulness: implications for the production of depressive behaviors. *Sleep* 25(2): 177-184.
- Feng PM, Vogel GW. 2001. The critical window of brain development from susceptible to insusceptible. Effects of clomipramine neonatal treatment on sexual behavior. *Dev Brain Res.* 129 (1): 107-110.
- Fernández-Guasti A, Escalante AL, Alherius S, Hillegart V, Larsson K. 1992. Stimulation of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in brain regions and its effects on male rat sexual behavior. *Eur J Pharmacol* 210: 121-129.
- 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.
- Fischette CT, Biegon A, McEwen BS. 1983. Sex differences in serotonin 1 receptor binding in rat brain. *Science* 222: 333-335..
- Geyer MA y Markou A. 1995. Animal models of psychiatric disorders. En *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. Bloom FE y Kupfer DJ eds, Raven Press pp. 787–798.
- González MI, Leret ML.1992. Role of monoamines in the male differentiation of the brain induced by androgen aromatization. *Pharmacol Biochem Behav* 41(4): 733-737.
- González-Pimentel R y Hernández-González M. 2002. Aspectos motivacionales de la conducta sexual. En: Hernández-González ed. *Motivación animal y humana*. 1a ed. Manual moderno. pp. 127-151.
- Gorski RA, Gordon JH, Shryne JE, Southam AM. 1978. Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area of the rat brain. *Brain Res* 148:, 333–346.
- Gorzalka BB, Rezek DL, Whalen RE. 1975. Adrenal mediation of estrogen induced ejaculatory behavior in the male rat. *Physiol Behav* 14: 373-376.
- Gouin JP, Connors J, Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Malarkey WB, Atkinson C, Beversdorf D, Quan N. 2010. Altered expression of circadian rhythm genes among individuals with a history of depression. *Journal of affective disorders* 126: 161-166.
- Gross C, Zhuang X, Stark K, Ramboz S, Oosting R, Kirby LG. 2002. Serotonin1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature* 416: 396-400.
- Guevara-Pérez MA y Hernández-González M. 2006. Registro y análisis automatizado de señales bioeléctricas cerebrales durante la ejecución sexual. Universidad de Guadalajara. pp. 17-19.
- Hansen HH, Mikkelsen JD. 1998. Long-term effects on serotonin transporter mRNA expression of chronic neonatal exposure to a serotonin reuptake inhibitor. *Eur J Pharmacol* 352: 307-315.

- Hansen HH, Sanchez C, Meier E. 1999. Neonatal Administration of the Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Lu 10–134-C Increases forced swimming-induced immobility in adult rats: A putative animal model of depression? *J Pharmacol Exp Ther* 283: 1333-1341.
- Hernández-González M y Prieto-beracoechea CA. 2002. Un acercamiento a la motivación. En: Hernández-González ed. Motivación animal y humana. 1a ed. Manual moderno. pp. 3-17.
- Hilakivi I, Ahtee L, Rinne JO, Tiara T, Attila LMJ, Marjam-Aki P. 1995. Effects of monoamine uptake inhibitors given early postnatally on monoamines in the brain stem, caudate/putamen and cortex, and on D1 and D2 receptors in the caudate/putamen. *J Neural Transm* 102: 139-148.
- Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. 2002. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 533-554.
- Hull E, Dominguez JM. 2007. Sexual behavior in male rodents. *Horm Behav* 52 (1): 45-55.
- Hull EM, Wood RI, McKenna KE. 2006. Neurobiology of male sexual behavior. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction pp 1729-1797.
- Igvy-May N, Tamir H, Gershon MD. 1994. Synaptic properties of serotonergic growth cones in developing rat brain. *J Neurosci* 14: 1101-1029.
- Jacobs BL, Azmitia E C. 1992. Structure and function of the brain serotonergic system. *Physiol Rev* 72: 165-229.
- Jacobson L, Sapolsky R. 1991. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev* 12, 118-134.
- Jans LA, Riedel WJ, Markus CR, Blokland A. 2006. Serotonergic vulnerability and depression: assumptions experimental evidence and implications. *Mol Psychiatry* 12(6): 522-543.
- Kandel RE, Schwartz HJ. 1991. Principles of neural science. 2a ed. Elsevier Science Publishing Co. pp 720-724.
- Katz RJ. 1982. Animal model of depression: pharmacological sensibility of a hedonic deficit. *Pharma Biochem Behav* 16: 965-968.
- Kinney GG, Vogel GW, Feng P. 1997. Decreased dorsal raphe nucleus neuronal activity in adult chloral hydrate anesthetized rats following neonatal clomipramine treatment: implications for endogenous depression. *Brain Res* 756: 68-75.
- Krey LC, McGinnis MY. 1990. Time-courses of the appearance/disappearance of nuclear androgen+ receptor complexes in the brain and adenohipophysis following testosterone/withdrawal to castrated male rats: Relationships with gonadotropin secretion. *J Steroid Biochem* 35: 403-408.
- Laflamme N, Nappi RE, Drolet G, Labrie, Rivest S. 1998. Expression and neuropeptidergic characterization of estrogen receptors (ER α and ER β) throughout the rat brain: anatomical evidence of distinct roles of each subtype. *J Neurobiol* 36: 357-378.
- Larsson K, Sodersten P, Beyer C. 1973. Sexual behavior in male rats treated with estrogen in combination with dihydrotestosterone. *Horm Behav* 4: 289-299.
- Lauder JM. 1990. Ontogeny of the serotonin system in the rat: Serotonin as a developmental signal. *Ann NY Acad Sci* 600: 297-313.

- Le Poul E, Boni C, Hanoun N, Laporte AM, Laaris N, Chauveau J, Hamon M, Lanfumey L. 2000. Differential adaptation of brain 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors and 5-HT transporter in rats treated chronically with fluoxetine. *Neuropharmacol* 39: 110-122.
- Li Q, Muma A, Van de Kar L. 1996. Chronic fluoxetine induces a gradual desensitization of 5-HT_{1A} receptors: reductions in hypothalamic and midbrain Gi and G0 proteins and in neuroendocrine responses to 5-HT_{1A} agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 279: 1035-1042.
- López-Figueroa AL, Norton CS, López-Figueroa MO, Armellini-Dodel D, Burke S, Akil H, López JL, Watson SJ. 2004. Serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT_{2A} Receptor mRNA Expression in Subjects with Major Depression, Bipolar, Disorder, and Schizophrenia. *Biol Psychiatry* 55: 225-233.
- Lopez-Rubalcava C, Lucki I. 2000. Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropharmacol* 22: 191-199.
- Lucki I, 1997. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol* 8: 523-432.
- Lucki I, Singh A, Kreiss D. 1994. Behavioral studies of serotonin receptor agonist as antidepressant drugs. *Neurosci Biobehav Rev* 18: 85-95.
- Lucki I, Wieland S. 1990. 5-hydroxytryptamine responses and behavioral responses. *Neuropharmacol* 3: 481-493.
- Luke MS, Coffey DS. 1994. The male sex accessory tissues: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction pp 1435-1487.
- Maciag D, Simpson KL, Coppinger D, Lu Y, Wang Y, Lin RC, Paul IA. 2006a. Neonatal antidepressant exposure has lasting effects on behavior and serotonin circuitry. *Neuropharmacol* 31: 47-57.
- Maciag D, Williams L, Coppinger D, Paul IA. 2006b. Neonatal citalopram exposure produces lasting changes in behavior which are reversed by adult imipramine treatment. *Eur J Pharmacol* 532: 265-269.
- Maciag D, Coppinger D, Paul IA. 2006c. Evidence that the deficit in sexual behavior in adult rats neonatally exposed to citalopram is a consequence of 5-HT₁ receptor stimulation during development. *Brain Res* 1125(1): 171-175.
- MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT, Nahmias C, Young LT. 2003. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 1387-1392.
- Malberg JE, Schechter LE, 2005. Increasing hippocampal neurogenesis: a novel mechanism for antidepressant drugs, *Curr Pharm Des* 11: 145-155.
- Manji HK, Drevets WC, Charney DS. 2001. The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine* 7(5): 541-547).
- Mann J. 1999. Role of serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. *Neuropharmacol* 21(2): 99-105.

- Martin P, Beninger R, Hamon M, Puech A. 1990. Antidepressant like action of 8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} agonist, in the learned helplessness paradigm: evidence for a postsynaptic mechanism. *Behav Brain Res* 38: 135-144.
- Martínez-Mota L, Estrada-Camarena E, Lopez-Rubalcava C. 2002. Indorenate produces antidepressant-like actions in the rat forced swimming test via 5-HT_{1A} receptors. *Psychopharmacol* 165: 60-66.
- Mathers CD, Iburg KM, Salomon JA, Tandon A, Chatterji S, Ustun B, Murray CJ. 2004. Global patterns of healthy life expectancy in the year 2002. *BMC Public Health* 4: 66.
- Mayorga AJ, Dalvi A, Page ME, Zimov-Levinson S, Hen R, Lucki I. 2001. Antidepressant-like behavioral effects in 5-hydroxytryptamine(1A) and 5-hydroxytryptamine(1B) receptor mutant mice. *J Pharmacol Exp Ther* 298: 1101-1107.
- Mazer C, Muneyirci J, Taheny K, Raio N, Borella A, Whitaker-Azmitia P. 1997. Serotonin depletion during synaptogenesis leads to decreased synaptic density and learning deficits in the adult rat a possible model of neurodevelopmental disorders with cognitive deficits. *Brain Res* 760: 68-73.
- Mazza JJ, Abbott RD, Fleming CB, Harachi TW, Cortes RC, Park J, Haggerty KP, Catalano RF. 2009. Early predictors of adolescent depression. *The Journal of Early Adolescence* 29: 664-692.
- McIntosh TK, Barfield RJ. 1984. Brain monoaminergic control of male reproductive behavior. I. Serotonin and the postejaculatory refractory period. *Behav Brain Res* 12: 255-256.
- McLaren L. 2004. Cómo Entender y Aliviar la Depresión. Grupo Editorial Tomo. México. pp 15-21.
- McCarthy MM, Auger AP, Perrot-Sinal TS. 2002. Getting excited about GABA and sex differences in the brain. *Trends Neurosci* 25: 307-312.
- McDonald P, Beyer C, Newton F, Brien B, Baker R, Tan HS. 1970. Failure of 5 α -dihydrotestosterone to initiate sexual behavior in the castrated male rat. *Nature* 227: 964-965.
- McEwen BS, Alves SE. 1999. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocrin Rev* 20: 279-307.
- McEwen BS. 1991. Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *Tips Reviews* 12: 141-147.
- McEwen BS. 1999. The Molecular and Neuroanatomical Basis for estrogen effects in the central nervous system. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84(6): 1790-1797.
- McGinnis MY, Dreifuss RM. 1989. Evidence for a role of testosterone–androgen receptor interactions in mediating masculine sexual behavior in male rats. *Endocrinol* 124: 618-626.
- Meisenzahl EM, Seifert D, Bottlender R, Teipel S, Zetsche T, Jäger M, Koutsouleris N, Schmitt G, Scheuerecker J, Burgermeister B, Hampel H, Rupprecht T, Born C, Reiser M, Möller HJ, Frodl T. 2010. Differences in hippocampal volume between major depression and schizophrenia: a comparative neuroimaging study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 260(2): 127-37
- Meltzer HY, Martin TL. 1987. The serotonin hypothesis of depression. En: Herbert y Meltzer HY. *Psychopharmacology: The third generation of progress*. Ed. Raven Press pp 513-525.

- Mirmiran M, Van de Poll NE, Comer HG, Van Oyen H, Boer G. 1981. Supresion of active sleep by chronic treatment with clomipramine during early postnatal development: effect on adult sleep and behavior in rat. *Brain Res* 204: 129-146.
- Mize A, Poisner A, Alper R. 2001. Estrogens act in rat hippocampus and frontal cortex to produce rapid, receptor mediated decreases in serotonin 5-HT_{1A} receptor function. *Neuroendocrinol* 73: 166-174.
- Morali G. 1998. Regulación hormonal de la conducta sexual masculina. En: Velázquez-Moctezuma J. *Biología de la reproducción* pp. 399-417.
- Murray JF, Dakin CL, Siddiqui A, Pellatt LJ, Ormerod LJA, Swan AV, Davies DC, Wilson CA. 2004. Neonatal 5HT activity antagonizes the masculinizing effect of testosterone on the luteinizing hormone release response to gonadal steroids and on brain structures in rats. *Eur J Neurosci* 19:, 387–395.
- Naftolin F, Horvath TL, Jakab RL, Leranath C, Harada N, Balthazart J. 1996. Aromatase immunoreactivity in axon terminals of the vertebrate brain: an immunocytochemical study on quail, rat, monkey and human tissues. *Neuroendocrinol* 63: 149-155.
- 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.
- Nishi K, Kanemaru K, Diskic M. 2009. A genetic rat model of depression, Flinders Sensitive Line, has a lower density of 5-HT_{1A} receptors, but a higher density of 5-HT_{1B} receptors, compared to control rats. *Neurochem Int* 54: 299-307.
- Ogawa S, Chan J, Chester AE, Gustafsson JA, Korach KS, Pfaff DW. 1999. Survival of reproductive behaviors in estrogen receptor β gene-deficient (β ERKO) male and female mice. *PNAS* 96(22): 12887-12892.
- Ohno Y. 2010. New insight into the therapeutic role of 5-HT_{1A} receptorin central nervous disorders. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* 10(2): 148-157.
- Olivier B, Pattij T, Wood SJ, Oosting R, Sarnyai Z, Toth M. 2001. The 5-HT_{1A} receptor knockout mouse and anxiety: is the GABAA_benzodiazepine receptor complex involved? *Behav Pharmacol* 75(6): 2415-2426.
- Organización Mundial de la Salud. 2006. Informe de salud en el mundo. En *Salud Mental: Nuevos conocimientos, nuevas esperanzas*, pp 29-30.
- Osterlund M, Overstreet D, Hurd Y. 1999. The flinders sensitive line rats, a genetic model of depression, show abnormal serotonin receptor mRNA expression in the brain that is reversed by 17 β -estradiol. *Mol Brain Res* 74: 154- 166.
- Osterlund MK. 2010. Underlying mechanisms mediating the antidepressant effects of estrogens. *Biochim Biophys Acta* 1800 (10): 1136-1144.
- Ostlund H, Keller E, Hurd YL. 2003. Estrogen receptor gene expression in relation to neuropsychiatric disorders. *Ann NY Acad Sci* 1007: 54-63.
- Parsey RV, Oquendo MA, Ogden RT, Olvet, DM, Simpson N, Huang YY, Van Heertum RL, Arango V, Mann JJ. 2006. Altered serotonin 1A binding in major depression: a [carbonyl-C-11] WAY100635 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* 59:, 106-113.

- Paup DC, Mennin SP, Gorski RA. 1975. Androgen- and estrogen-induced copulatory behavior and inhibition of luteinizing hormone (LH) secretion in the male rat. *Horm Behav* 6: 35-46.
- Payne JL. 2003. The role of estrogen in mood disorders in women, *Int Rev Psychiatry* 15: 280-290.
- Pfaus JG, Kippin TE, Coria-Avila, G. 2003. What can animal models tell us about human sexual response? *Annu Rev Sex Res* 14:, 1-63.
- Phillips-Farfán BV, Fernández-Guasti A, 2009. Endocrine, neural and pharmacological aspects of sexual society in male rats. *Neurosc Behav Res* 33: 442-455.
- Popova NK, Naumenko VS, Plyusnina IZ, Kulikov AV. 2005. Reduction in 5-HT1A density mRNA expression, and functional correlates for 5-HT1A receptors in genetically defined aggressive rats. *J Neurosc Res* 80: 286-292.
- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature* 266: 730-732.
- Porsolt. RD, Bertin A, Blavet N, Deniel M, Jalfre M. 1979. Immobility induced by forced swimming in rats: Effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Euro J Pharmacol* 57: 201-210.
- Purba JS, Hoogendijk WJ, Hofman MA, Swaab DF. 1996. Increased number of vasopressin- and oxytocin-expressing neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in depression. *Arch Gen Psychiatry* 53: 137-143.
- Putman SK, Sato S, Hull EM. 2003. Hormonal maintenance of copulation in castrates: association with extracellular dopamine in MPOA. *Horm Behav* 44: 419-426.
- Raadsheer FC, Hoogendijk WJ, Stam FC, Tilders FJ, Swaab DF. 1994. Increased numbers of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of depressed patients. *Neuroendocrinol* 60(4): 436-444.
- Ramboz S, Oosting R, Ait Amara D, Kung HF, Blier P. 1998. Serotonin receptor 1A knockout: An animal model of anxiety-related disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 14476-14481.
- Ramirez VD, Zheng J. 1996. Membrane sex-steroid receptors in the brain. *Front Neuroendocrinol* 17: 402-439.
- Rausch JL, Johnson ME, Kasik KE, Stahl SM. 2006. Temperature regulation in depression: functional 5HT1A receptor adaptation differentiates antidepressant response. *Neuropsychopharmacol* 6(31): 2274-2280.
- Raz L, Khan MM, Mahesh VB, Vadlamudi RK, Brann DW. 2008. Rapid estrogen signaling in the brain. *Neurosignals* 16: 140-153.
- Richardson-Jones JW, Craige CP, Guiard BP, Stephen A, Metzger KL, Kung HF, Gardier AM, Dranovsky A, David DJ, Beck SG, Hen R, Leonardo ED. 2010. 5-HT(1A) autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. *Neuron* 65: 40-52.
- Rissman EF, Wersinger SR, Fugger HN, Foster TC. 1999. Sex with knock out models: behavioral studies of estrogen receptor α . *Brain Res* 835: 80-90.

- Rissman, EF, Wersinger SR, Taylor JA, Lubahn DB. 1997. Estrogen receptor function as revealed by knockout studies: neuroendocrine and behavioral aspects. *Horm Behav* 31(3): 232-243.
- Robinson M, Edwards SE, Iyengar S, Bymaster F, Clark M, Katon W. 2009. Depression and pain. *Frontiers in Bioscience* 14: 5034-5051.
- Rochira V, Granata ARM, Madeo B, Zirilli L, Rossi G, Carani C. 2005. Estrogens in male: what have we learned in the last 10 years? *Asian J Androl* 7 (1): 3-20.
- Roselli CE, Cross E, Poonyagariyagorn HK, Stadelman HL. 2003. Role of aromatization in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in male rats. *Horm Behav* 44: 146-51.
- Sandanger I, Nygard JF, Ingebrigtsen G, Sorensen T, Dalgard OS. 1999. Prevalence, incidence and age at onset of psychiatric disorders in Norway. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 34: 570-579.
- Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J. 2000. Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission tomography with WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 57(2): 174-180.
- Schildkraut JJ, Gordon EK, Durell J. 1965. Catecholamine metabolism in affective disorders. I. Normetanephrine and VMA excretion in depressed patients treated with imipramine. *J Psychiatr Res* 3(4): 213-228.
- Schneider L, Small G, Hamilton S, Bystrisky A, Nemerof C, Meyers B. 1997. Estrogen replacement and response to fluoxetine in surgically menopausal women. *Am J Geriatr Psychiatr* 5: 97-106.
- Secretaria de Educación Pública. 2008. 1ª Encuesta nacional exclusión, intolerancia y violencia en escuelas públicas de educación media superior. pp 1-14.
- Sell SL, Craft RM, Seitz PK, Stutz SJ, Cunningham KA, Thomas ML. 2008. Estradiol-sertraline synergy in ovariectomized rats. *Psychoneuroendocrinol* 33: 1051-1060.
- Shayit M, Yadid G, Overstreet DH, Weller A. 2003. 5-HT_{1A} receptor subsensitivity in infancy and supersensitivity in 1A adulthood in an animal model of depression. *Brain Res* 980: 100-108.
- Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH. 1999. Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci* 19: 5034-5043.
- Shughrue PJ, Lane MV, Merchenthaler I. 1997. Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 388: 507-525.
- Sibille E, Hen R. 2001. Serotonin 1A receptors in mood disorders: a combined genetic and genomic approach. *Behav Pharmacol* 12: 429-438.
- Sibug RM, Compaan JC, Meijer OC, Van der Gugten J, Olivier B, De Kloet ER. 1998. Flesinoxan treatment reduces 5-HT_{1A} receptor mRNA in the dentate gyrus independently of high plasma corticosterone levels. *Eur J Pharmacol* 353: 207-214.
- Simerly RB. 2002. Wired for reproduction: organization and development of sexually dimorphic circuits in the mammalian forebrain. *Ann Rev Neurosci* 25:, 507-536.

- Simoncini T, Genazzani AR. 2003. Non-genomic actions of sex steroid hormones. *Eur J Endocrinol* 148: 281-292.
- Simpkins JW, Mueller FP, Huang HH, Meites JJ. 1977. Evidence for depressed catecholamine and enhanced serotonin metabolism in aging male rats: possible relation to gonadotropin secretion. *Endocrinol* 100: 1672-1678.
- Sisk CL y Meek LR. 1997. Sexual and reproductive behaviors. En: Crawley JN, Gerfen CR, Rogawsky MA, Sibley DR, Skolnick P, Wray S eds. *Current Protocols in Neuroscience*. Vol III Ed Current Protocols pp. 1-18.
- Soares CN, Almeida OP, Joffe H. 2001. Efficacy of estradiol for the treatment of depressive disorders in perimenopausal women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* 58: 529-534.
- Sodersten P. 1973. Estrogen-activated sexual behavior in male rats. *Harm Behav* 4: 247-256.
- Stahl SM. 2002. *Psicofarmacología esencial de la depresión y trastorno bipolar*. 1ª edición. Ed. Ciencias medicas. pp 192.
- Stockmeier CA, Dilley GE, Kulnane LS, Miguel-Hidalgo JJ, Rajkowska-Markow G (1999): Morphometric evaluation of the midbrain dorsal raphe nucleus (DR) in suicide victims with major depression (MD). *Abstr Soc Neurosci* 25: 2098.
- Stockmeier CA, Shapiro LA, Dilley GE, Kolli TN, Friedman L, Rajkowska G. 1998. Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression-postmortem evidence for decreased serotonin activity. *J of Neurosci* 18 (18): 7394-7401.
- Taziaux M, Keller M, Bakker J, Balthazart J. 2007. Sexual behavior activity tracks rapid changes in estrogen concentrations. *J Neurosci* 27: 6563-6572.
- Trucco M. 2002 Stress and mental disorders: neurobiological and psychosocial aspects. *Rev chil neuro-psiquiatr* 40(2): 4-19. Versión en línea: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071792272002000600002&script=sci_arttext&lng=e
- Tsankova N, Renthal W, Kumar A, Nestler EJ. 2007. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 8: 355-67.
- Underwood MD, Khaibulina AA, Ellis SP, Moran A, Rice PM, Mann JJ, Arango V. 1999. Morphometry of the dorsal raphe nucleus serotonergic neurons in suicide victims. *Biol Psychiatry* 46: 473-483.
- Vagell ME, McGinnis MY. 1997. The role of aromatization in the restoration of male rat reproductive behavior. *J Neuroendocrinol* 9: 415-421.
- Van de Kar LD. 1989. Neuroendocrine aspects of the serotonergic hypothesis of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 13: 237-246.
- Vázquez-Palacios G, Arteaga Silva M, Hernández González M, Retana Márquez MS, Muñoz Gutiérrez M, Bonilla Jaime H. 2009. La prueba de nado forzado y la búsqueda de nuevos tratamientos antidepressivos. En: *Aproximaciones al estudio de la neurobiología conductual*. Guevara Pérez MA, Contreras Gómez A, Arteaga Silva M, Bonilla Jaime H, Hernández González M (Coords.), Universidad Autónoma Metropolitana, Universidad Autónoma de Guerrero, Grupo de Bioseñales. México. pp. 225-261.

- Vázquez-Palacios G, Bonilla-Jaime H, Velázquez-Moctezuma J. 2005. Antidepressant effects of nicotine and fluoxetine in an animal model of depression induced by neonatal treatment with clomipramine. *Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 29: 39-46.
- Vázquez-Palacios G. 2004. Interacción Serotonina-Acetilcolina: Efecto de la administración de nicotina sobre la inmovilidad en la prueba de nado forzado y el patrón de sueño en un modelo animal de depresión. Tesis de Doctorado-Universidad Autónoma Metropolitana.
- Velázquez-Moctezuma J, Díaz-Ruiz O. 1992. Neonatal treatment with clomipramine increased immobility in the forced swimming test: An attribute of animal models of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 42 (4): 737-739.
- Vijayakumar M, Meti BL. 1999. Alterations in the levels of monoamines in discrete brain regions of clomipramine induced animal model of endogenous depression. *Neurochem Res* 24: 345-349.
- Vogel G, Hagler M, Hennessey A, Richard C. 1996. Dose-dependent decrements in adult male rat sexual behavior after neonatal clomipramine treatment. *Pharmacol Biochem and Behav* 54(3): 605-609.
- Vogel G, Neill D, Hagler M, Kors D, Hartley P. 1990c. Decreased intracranial self-stimulation in a new animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 65-68.
- Vogel G, Neill D, Hagler M, Kors D. 1990b. A new animal model of endogenous depression: A summary of present findings. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 85-91.
- 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, Vogel FA. 1982. A new animal model of human endogenous depression. *Sleep Res* 11: 222.
- Vogel GW, Buffenstein A, Minter K, Hennessey A. 1990a. Drugs effects on REM sleep and endogenous depression. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 49-63.
- Vogel GW, Thurmond A, Gibbons P, Sloan K, Boyd M, Walker M. 1975. REM sleep reduction effects on depression syndromes. *Arch Gen Psychiatry* 32: 765-777.
- Wang S, Zhang Z, Guo Y, Teng G, Chen B. 2009. Decreased expression of serotonin 1A receptor in dentate gyrus in association with chronic mild stress: A rat model of post-stroke depression. *Psychiatry Res* 170: 245-251.
- Welner SA, De Montigny C, Desroches J, Desjardins P, Suranyi-Cadotte BE. 1989. Autoradiographic quantification of serotonin1A receptors in rat brain following antidepressant drug treatment. *Synapse* 4,: 347-352.
- Whitaker-Azmitia PM, Azmitia EC. 1986. Autorregulation of fetal serotonergic neuronal development: Role of high affinity serotonin receptors. *Neurosc Let* 67: 307-312.
- Whitaker-Azmitia PM. 1991. Role of serotonin and other neurotransmitter receptor in brain development: basis of developmental pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 553-561.
- Wieland S, Lucki I.1990. Antidepressant-like activity of 5-HT1A agonists measured with the forced swimming test. *Psychopharmacol* 101: 497-504.

- Willner P, Mitchell PJ. 2002. The validity of animal models of predisposition to depression. *Behav Pharmacol* 13:169-188.
- Willner P. 1991. Behavioral models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives. Cambridge University Press. 31: 232-243.
- Wilson CA, Gonzalez I, Farabollini F. 1992. Behavioral effects in adulthood of neonatal manipulation of brain serotonin levels in normal and androgenized females. *Pharmacol Biochem Behav* 41(1): 91-98.
- Wilson CA, Gonzalez MI, Albonetti ME, Farabollini F. 1998 In Ellis, L. & Ebertz, L. (eds), The Involvement of Neonatal 5-HT Receptor-Mediated Effects on Sexual Dimorphism of Adult Behavior in the Rat. Males, females and behavior. Praeger, Westport, USA, pp. 109-127.
- Yan W, Wilson CC, Haring JH. 1997. 5-HT_{1A} receptors mediate the neurotrophic effect of serotonin on developing dentate granule cells. *Develop Brain Res* 98 (2): 185-190.
- Yau JLW, Olsson T, Noble J, Seckl JR. 1999. Yau, *et al.*, 1999. Serotonin receptor subtype gene expression in the hippocampus of aged rats following chronic amitriptyline treatment. *Mol Brain Res* 70: 282-287.
- Yavari P, Vogel GW, Neill DB. 1993. Decreased raphe unit activity in a rat model of endogenous depression. *Brain Res* 611: 31-36.
- Zhao C, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA. 2010. Estrogen Signaling via estrogen receptor β . *J Biol Chem* 285 (51): 39575-39579.

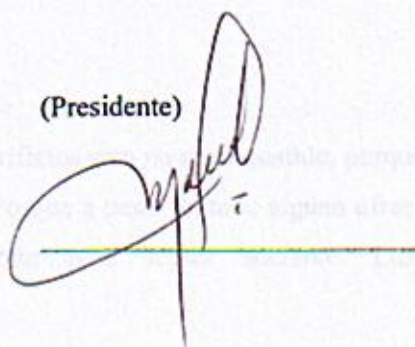
Los miembros del jurado designados por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada "Participación del 17β -estradiol y el receptor 5-HT_{1A} en las alteraciones conductuales en un modelo animal de depresión" con fecha 7 de Abril del 2011.

Dra. Marcela Arteaga Silva

Profesor Titular C

Departamento de Biología de la Reproducción
Universidad Autónoma Metropolitana-
Iztapalapa

(Presidente)



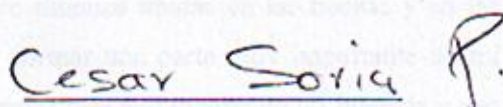
Dr. Cesar Soria Fregozo

Profesor Investigador

Departamento de Ciencias de la Tierra y de la
Vida.

Centro Universitario de los Lagos, Universidad
de Guadalajara.

(Secretario)



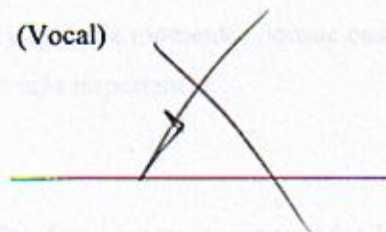
Dra. Ma. Isabel Pérez Vega

Profesor Investigador

Departamento de Ciencias de la Tierra y de la
Vida.

Centro Universitario de los Lagos, Universidad
de Guadalajara.

(Vocal)



Dra. Sonia Galván Arzate

Investigador en Ciencias Médicas

Departamento de Neuroquímica
Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía

(Vocal)

