

5
2ej. 03086



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Colegio de Ciencias y Humanidades

Unidad Académica de los Ciclos
Profesional y de Posgrado

Centro de Neurobiología

**EFFECTO DEL ESTRES AGUDO Y CRONICO SOBRE LA
CONDUCTA SEXUAL MASCULINA Y LOS NIVELES
PLASMATICOS DE CORTICOSTERONA Y TESTOSTERONA
EN LA RATA. PARTICIPACION DE OPIOIDES ENDOGENOS**

T E S I S

Que para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

p r e s e n t a

M. en C. Maria del Socorro Imelda Retana Márquez

México, D. F.

1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

267157



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA

CRÉDITOS

El trabajo experimental de esta tesis se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, en el laboratorio de Psicobiología Neuroendócrina, perteneciente al Departamento de Biología de la Reproducción, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud.

El Director de la tesis fue el **Dr. Javier Velázquez Moctezuma**, Jefe del laboratorio de Psicobiología Neuroendócrina.

La parte experimental de la cuantificación de hormonas esteroides se llevó a cabo gracias a la adquisición de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución. Este equipo se compró con el financiamiento de CONACYT y de la Rectoría de la Unidad Iztapalapa de la UAM.

El estándar de testosterona fue obsequiado gentilmente por la **Dra. Gabriela Morali de la Brena**, a quien agradezco su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer sinceramente a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo:

Al Dr. Javier Velázquez Moctezuma, tutor de la tesis, por su comprensión, su constante apoyo moral y laboral y por la discusión de los resultados de este trabajo.

A los miembros de mi comité tutorial y a los sinodales:

La Dra. Gabriela Morali de la Brena; el Dr. Pablo Pacheco Cabrera; el Dr. Raúl Paredes Guerrero; la Dra. Margarita Martínez Gómez; el Dr. Jorge Manzo Denes y la Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio, porque sus valiosos comentarios y críticas complementaron y mejoraron substancialmente diversos aspectos teóricos de la tesis.

A mis compañeros de laboratorio:

Herlinda Bonilla Jaime, Gonzalo Vázquez Palacios y Emilio Domínguez Salazar, quienes me ayudaron a realizar varios de los experimentos de este trabajo. Gracias por su apoyo y su paciencia.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

**quienes me han enseñado, con su constante ejemplo, a trabajar siempre y
no darme nunca por vencida.**

LOS QUIERO MUCHO

A MI ESPOSO,

**amigo y compañero Carlos:
quien siempre y en todo me ha apoyado.**

GRACIAS

A MIS HIJOS

**Carlos Francisco, Ilse Mariana y Sara Elizabeth: quienes son el mejor regalo
de mi vida y me han enseñado lo que es el amor, la inocencia, la alegría y la
ternura.**

QUE DIOS LOS BENDIGA SIEMPRE

INDICE

	PAG.
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCION.....	3
Desarrollo histórico del concepto de estrés.....	3
Reostasis.....	7
Respuesta adaptativa al estrés.....	9
Clasificación de los estresores.....	9
Mecanismos de la respuesta de estrés.....	10
Sistema nervioso autónomo.....	10
Eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal.....	13
Factor liberador de la corticotropina (CRF).....	13
Hormona adrenocorticotrópica (ACTH).....	15
Glucocorticoides.....	16
Variaciones circádicas en los niveles plasmáticos de glucocorticoides.....	18
Consecuencias del estrés en la función reproductiva.....	19
ANTECEDENTES.....	20
Estrés agudo y neuroendocrinología reproductiva masculina.....	23
Estrés crónico y neuroendocrinología reproductiva masculina.....	24
Conducta sexual masculina en la rata.....	27
Estrés y conducta sexual masculina.....	33
Planteamiento del problema.....	35
HIPOTESIS.....	36
PROPOSITO Y OBJETIVOS.....	37
MATERIAL Y METODO.....	38
Animales experimentales.....	38
Registros de conducta sexual masculina.....	38
Aplicación de los estresores.....	39
Estrés por inmovilización durante 2 horas (IMOV-2).....	40
Estrés por inmovilización durante 6 horas (IMOV-6).....	40
Estrés por inmersión en agua fría.....	40
Estrés por choques eléctricos en las patas (CHEP).....	40
Control.....	41
Cuantificación de corticosterona plasmática.....	41
Métodos bioquímicos.....	42
Extracción de corticosterona y testosterona del plasma.....	42
Condiciones cromatográficas.....	43
Administración de corticosterona exógena.....	43
Administración de naltrexona en ratas estresadas.....	44
Análisis estadístico de los datos.....	44

RESULTADOS.....	46
Efecto de los estresores sobre la conducta sexual masculina.....	46
Efecto de los estresores sobre los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona.....	60
Efecto del estrés sobre los pesos de las glándulas suprarrenales, de las vesículas seminales y de los testículos.....	64
Efecto de los estresores sobre la ganancia de peso corporal.....	68
Variaciones circádicas en los niveles plasmáticos de corticosterona.....	71
Efecto de los estresores sobre los niveles plasmáticos de corticosterona.	73
Efecto de la administración de corticosteropna exógena en la conducta sexual masculina y en los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona.....	76
Efecto de la naltrexona sobre las alteraciones en la conducta sexual causadas por el estrés.....	79
Efecto de la naltrexona sobre las modificaciones en los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona por efecto del estrés.....	91
DISCUSION.....	94
Estrés por choques eléctricos.....	96
Estrés por inmersión en agua fría.....	103
Estrés por inmovilización.....	108
Pesos de las glándulas suprarrenales.....	114
Pesos testiculares.....	114
Pesos de vesículas seminales.....	115
Pesos corporales.....	116
CONCLUSIONES.....	116
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	119
APENDICE.....	143

RESUMEN

El incremento en los niveles plasmáticos de los corticosteroides suprarrenales se ha asociado con fallas en la función reproductiva de la mayoría de las especies de vertebrados, tanto en los machos como en las hembras. En los machos, la conducta sexual parece ser el evento reproductivo más vulnerable a los efectos del estrés, principalmente el social, pero los efectos que tienen otros estresores sobre esta conducta han sido poco estudiados. Por lo anterior, los objetivos de este trabajo fueron: observar el efecto de diferentes estresores aplicados tanto aguda como crónicamente sobre la conducta sexual de la rata macho, evaluando si los estresores, independientemente de su naturaleza, provocan las mismas alteraciones en esta conducta. Asimismo, se analizó el efecto del estrés sobre los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona y el efecto de esta última hormona sobre la conducta sexual masculina. Esto con el fin de determinar si las alteraciones de la conducta sexual del macho por efecto del estrés están relacionadas con modificaciones en los niveles plasmáticos de esas hormonas. También se estudió la participación de las β -endorfinas en las alteraciones que el estrés causa en la conducta sexual masculina.

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, sexualmente expertas, los cuales se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes grupos (n=10 cada uno): inmovilización durante dos horas (IMOV-2); inmovilización durante seis horas (IMOV-6); inmersión en agua fría (IMS); choques eléctricos aplicados en las patas (CHEP) y grupo control. Los estresores se aplicaron durante veinte días consecutivos y en los días 1, 4, 8, 12, 15 y 20 de estrés se evaluó la conducta sexual. Los parámetros sexuales registrados fueron: latencias y número de montas, de intromisiones y de eyaculaciones; intervalo posteyaculatorio; tasa de aciertos, así como intervalo interintromisión. Al término del último registro conductual, se cuantificaron los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona. En otros grupos de ratas sometidas a los mismos estresores se evaluaron los niveles plasmáticos de corticosterona, al inicio de la fase luminosa y de la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad. También se evaluó la ganancia de peso corporal de las ratas estresadas y controles. Al término de los días mencionados, se obtuvieron las glándulas suprarrenales, las vesículas seminales y testículos para pesarlos. En otros machos se analizó el efecto de diferentes dosis de corticosterona (0.5, 1, 2 y 4 mg) sobre la conducta sexual masculina y sobre los niveles plasmáticos de corticosterona y de testosterona. Por último, se evaluó la conducta sexual en machos sometidos a estrés por IMS y por CHEP, a los que previamente se les había administrado naltrexona (1.5 y 3 mg/Kg).

Se observaron alteraciones en la conducta sexual masculina dependientes del tipo de estresor. La IMS y los CHEP provocaron incrementos significativos en las latencias de monta y de intromisión, así como en el intervalo interintromisión (componente motivacional) y en las latencias de eyaculación. El número de montas se incrementó y la tasa de aciertos disminuyó (eficiencia copulatoria); también disminuyó la frecuencia eyaculatoria en 30 minutos (potencial copulatorio). El estrés por IMOV-2 afectó de manera inconsistente el número de montas y la tasa de aciertos. El estrés por IMOV-6 prácticamente no tuvo ningún efecto inhibitorio. Los estresores IMS y CHEP provocaron disminución significativa en los niveles plasmáticos de testosterona. La corticosterona plasmática se modificó de manera dependiente del estresor y de la duración del estrés. El estrés por IMS causó incremento significativo en los niveles plasmáticos de esta hormona en ambas fases del ciclo de luz/oscuridad del vivarium, a partir del día 4 de estrés, y se mantuvieron elevados durante el resto de los días. El estrés por CHEP no modificó los niveles sanguíneos de esta hormona en ningún día en ninguna de las fases del ciclo. El estrés por IMOV-2 e IMOV-6 provocó aumento en los niveles plasmáticos de corticosterona sólo cuando las ratas se expusieron a estos estresores al inicio de la fase luminosa del ciclo. El peso de las suprarrenales aumentó en las ratas sometidas a CHEP y a IMS durante 20 días. Los pesos de los testículos no se modificaron, y los pesos de las vesículas seminales disminuyeron sólo en las ratas sometidas a IMS durante 20 días. La ganancia promedio de peso corporal fue menor en las ratas sometidas a estrés. La administración de corticosterona no reprodujo los efectos del estrés por IMS y CHEP sobre la conducta sexual masculina y los niveles de testosterona, aún cuando los niveles de corticosterona se incrementaron de manera dosis-dependiente. La naltrexona previno totalmente los efectos del estrés por CHEP y por IMS sobre la conducta sexual masculina y los niveles de testosterona. Estos resultados muestran que las modificaciones conductuales y hormonales en respuesta al estrés durante 20 días dependen del tipo de estresor utilizado y que dichas alteraciones conductuales no se deben al incremento en la corticosterona plasmática, sino a la liberación de β -endorfinas, posiblemente a nivel central. Estos opioides también parecen estar involucrados en la disminución de la testosterona plasmática por efecto del estrés, contribuyendo a la alteración de la conducta sexual masculina en la rata.

SUMMARY

The increase in the plasmatic levels of adrenal corticosteroids due to stress has been related with the impairment of reproductive function in most of vertebrate species, both in males and females. In males, masculine sexual behavior seems to be the most vulnerable to the effects of stress, mainly social stress. However, the effects of other stressors on masculine sexual behavior have been poorly studied. The aim of this study was to evaluate the effects of different stressors applied both acutely and chronically on masculine sexual behavior in male rats, as well as on plasmatic levels of corticosterone and testosterone. The effects of corticosterone on masculine sexual behavior and testosterone, and the participation of endogenous β -endorphins in the effects of stress on masculine sexual behavior were also studied.

Male adult Wistar rats, sexually experienced, were randomly assigned to one of the following groups (n = 10, each): immobilization during 2 hours (IMOV-2); immobilization during 6 hours (IMOV-6); immersion in cold water (IMS); electrical foot shocks (CHEP) and control group. Stressors were applied during 20 consecutive days and masculine sexual behavior was assessed on days 1, 4, 8, 12, 15 and 20 of stress. Sexual parameters evaluated were: mount, intromission and ejaculation latencies, numbers of mounts and intromissions, ejaculatory frequency, post-ejaculatory period, hit rate, and interintromission interval. At the end of the last test of masculine sexual behavior (day 20 of stress), plasmatic levels of testosterone and corticosterone were quantified. In other groups of rats exposed to the same stressors, plasmatic levels of corticosterone were quantified, both when lights on and when off. Adrenal glands, seminal vesicles and body weights were evaluated. In other groups of rats, corticosterone was administered (0.5, 1, 2 and 4 mg) during 8 consecutive days and its effects on sexual behavior and testosterone levels were analyzed. Finally, masculine sexual behavior was assessed in rats stressed by CHEP and by IMS which were previously treated with naltrexone (1.5 or 3 mg/Kg). Stressor-dependent alterations in masculine sexual behavior were observed. Mount and intromission latencies, as well as interintromission interval (motivational component of sexual behavior) and ejaculation latencies (ejaculatory threshold) were increased significantly by CHEP and by IMS. The ejaculatory frequency (copulatory potential) and the number of mounts were also increased, while the hit rate (copulatory efficiency) decreased. Stress by IMOV-2 and by IMOV-6 altered, although inconsistently, the number of mounts and hit rate. IMS and CHEP stress caused a significant decrease in the plasmatic levels of testosterone. Regarding plasmatic levels of corticosterone, IMS increased significantly this hormone in both phases of light/dark cycle from day 4 of stress, and remained raised in all evaluated days. CHEP did not alter corticosterone in any of the evaluated days. IMOV-2 and IMOV-6 increased the plasmatic levels of corticosterone only when rats were stressed at the beginning of light phase but not when stressed in the dark phase. Adrenal hypertrophy was observed in rats stressed by CHEP and by IMS at 20th day of stress. Seminal gland weights of males submitted to IMS were smaller than those of control group after 20 days of stress. Testis weights were not affected by any of the stressors used. Body weight gain was less in stressed rats. Corticosterone administration did not reproduce the effects of stress by IMS or by CHEP on both masculine sexual behavior and plasmatic testosterone. The opioid antagonist naltrexone prevented the effects of stress by CHEP and by IMS on masculine sexual behavior and the levels of testosterone in plasma. These results show that both behavioral and hormonal alterations due to stress during 20 consecutive days depend on the nature of the stressor used, and behavioral alterations are not related with the increase in the plasmatic levels of corticosterone. The alterations in masculine sexual behavior provoked by IMS and CHEP stressors in the male rat could be explained by the release of β -endorphins. These endogenous peptides could also be responsible for the decrease in plasmatic levels of testosterone by stress, thus contributing to altering masculine sexual behavior in the male rat.

INTRODUCCIÓN

El término estrés se ha descrito como un estado de homeostasis alterada o equilibrio alterado. Las fuerzas que causan esta alteración se conocen como estresores, mientras que los mecanismos que se activan para neutralizar los efectos de los estresores y reestablecer la homeostasis son conocidos como respuesta adaptativa (Chrousos et al, 1988; Johnson et al, 1992).

Desarrollo histórico del concepto de estrés.

En 1878, el fisiólogo francés Claude Bernard propuso la teoría de que los organismos se hacen más independientes del medio que los rodea mediante el desarrollo de formas más complejas para estabilizar su medio interno, permitiéndoles contrarrestar los efectos de los cambios del medio externo. Así, estableció que la constancia en la composición de lo que llamó "medio interno" es la condición más importante para la existencia de una vida libre e independiente. En los animales superiores, el medio interno corresponde al plasma y al líquido intersticial que baña a las células, proveyéndolas de los nutrientes y las condiciones óptimas para su funcionamiento (Bernard, 1878).

A principios del siglo XX, Walter Cannon extendió esta teoría proponiendo que los seres vivos se comportan como sistemas termodinámicos abiertos y designó como "homeostasis" al conjunto de mecanismos fisiológicos con los cuales el animal mantiene un equilibrio dinámico con su medio interno, independientemente de las constantes fluctuaciones del medio que los rodea (Cannon, 1929).

Cannon demostró experimentalmente que el sistema simpático-suprarrenal era el responsable de coordinar la respuesta de "fuga o lucha", necesaria para enfrentar los retos externos y que las alteraciones tanto físicas como emocionales podían desencadenar esta respuesta del organismo. Además, propuso la existencia de un nivel crítico de estrés, en términos de magnitud y duración, contra el cual los mecanismos homeostáticos fallan y el organismo perece. Cannon creía que la susceptibilidad de cada organismo al estrés crítico varía de acuerdo a sus condiciones generales y a las fluctuaciones normales y patológicas de la existencia en un ciclo de vida común (Cannon, 1929).

El primer paso importante hacia el desarrollo de una teoría biológica del estrés fue dado por Hans Selye. Este científico alemán propuso que cuando el organismo es desviado de su estado normal de reposo, sufre una condición a la que denominó estrés. Esta desviación puede ser mínima o, por el contrario, tan acentuada que puede poner en riesgo la vida (Selye, 1950). Selye sostenía que una variedad de estímulos adversos (estresores) tales como las lesiones quirúrgicas, las heridas, el ejercicio muscular, las toxinas, la exposición al frío o al calor, así como privación de alimento, provocan en el organismo una respuesta inespecífica llamada estrés, que se relaciona con el desarrollo de estados patológicos (Selye, 1936). Selye observó que en los animales estresados, la respuesta al estrés se caracterizaba por el aumento invariable en los niveles de corticosteroides en la sangre, independientemente de la naturaleza del estresor. Selye propuso que esta respuesta inespecífica de estrés constituye la base de un síndrome general de estrés, al que llamó síndrome general de adaptación (SGA), considerado como el resultado del cúmulo de respuestas biológicas inespecíficas. Este síndrome se desarrolla en tres etapas: una "reacción de alarma"

inicial, caracterizada por una descarga simpática-adrenomedular inmediata; ésta es seguida de la "etapa de resistencia", caracterizada por la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, a través de la secreción del factor liberador de la corticotropina en el hipotálamo (CRF; Guillemin y Rosenberg, 1955; Saffran et al, 1955), el cual a su vez estimula en la adenohipófisis la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). En esta etapa el individuo es biológicamente capaz de enfrentar las demandas fisiológicas del estrés. Si el estrés continúa, el individuo entra a la "etapa de agotamiento" del sistema biológico de defensa. Durante esta etapa final, se desarrollan diferentes patologías asociadas con el estrés prolongado, que pueden llevar al individuo a la muerte (Selye, 1946).

A medida que la investigación en la neuroendocrinología fue avanzando, el concepto de Selye sobre la respuesta inespecífica de estrés fue cada vez más cuestionado y eventualmente rechazado. Uno de los primeros en revisar el concepto de respuesta inespecífica del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal durante las situaciones de estrés fue Mason, quien demostró que el patrón de las respuestas hormonales difiere de un tipo de estresor a otro. Así, el estrés emocional provoca incremento en el nivel plasmático de corticosteroides suprarrenales, pero la elevación de la temperatura ambiental no tiene este efecto, sino por el contrario, la concentración plasmática de corticosteroides disminuye y se mantiene así mientras la temperatura ambiental permanece elevada. Con esto se demostró que la respuesta de la glándula suprarrenal no es una reacción inespecífica a todos los estresores (Mason, 1968). Evidencias adicionales muestran que la respuesta de la corteza suprarrenal no es la misma para todos los estresores. El estrés por inmovilización en los carneros causa incremento en los niveles plasmáticos de corticosteroides cinco veces mayor que el nivel control,

mientras que el aislamiento causa incremento en los niveles plasmáticos de corticosteroides tres veces mayor que los niveles de los controles. La exposición al estrés social no provoca aumento en los niveles de estas hormonas (Moberg et al, 1983).

Aunque la teoría de Selye se enfocó principalmente al papel de la corteza suprarrenal, enfatizando la secreción de corticosteroides durante el estrés, su contribución ha sido fundamental para la comprensión de la respuesta biológica de estrés.

La teoría contemporánea en la biología del estrés conceptualiza un "sistema de estrés", integrado por estructuras neuroanatómicas que funcionan para provocar cambios conductuales, fisiológicos y bioquímicos dirigidos al mantenimiento de la homeostasis (Chrousos et al, 1988). La respuesta del organismo durante el estrés tiene componentes conductuales, autónomos y endócrinos que involucran al sistema nervioso central, al sistema nervioso simpático y la médula suprarrenal, así como al eje hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal, los cuales actúan coordinadamente para regular las funciones homeostáticas y conductuales de los organismos (Tilders y Berkenbosh, 1986) y poder así neutralizar los efectos nocivos de los estresores (Gold et al, 1988a; 1988b). En la periferia, las divisiones simpática y corticosuprarrenal del sistema de estrés tienen acciones integradoras adicionales. Estas incluyen interacciones complementarias y permisivas de los glucocorticoides y de las catecolaminas en la regulación y el mantenimiento de la homeostasis metabólica y cardiovascular (Bohus et al, 1983; Rivier y Vale, 1983).

Reostasis.

Si bien el término homeostasis ha sido un concepto básico de la fisiología durante los últimos cien años, recientemente este concepto ha sido evaluado de manera crítica sobre la base de que el organismo no siempre busca la constancia de su medio interno, es decir, no siempre reacciona previniendo el cambio. Por el contrario, algunas veces los mecanismos fisiológicos lo promueven activamente y permiten cambios en los niveles sometidos a regulación, modificando el nivel de referencia del controlador, conduciendo así a un nivel diferente de la señal regulada. El término que define el cambio en los niveles regulados es el de "reostasis" (Mrosovsky, 1990). Dichos cambios en las variables fisiológicas ocurren antes de que los estímulos ambientales afecten al organismo, lo que brinda ventajas con respecto a un sistema que sólo responde cuando las perturbaciones han ocurrido. De la misma manera, en situaciones en las que el costo energético de mantener una variable en un nivel constante puede ser muy alto, el permitir su variación ofrece ventajas adaptativas. En estas situaciones, la transición de un punto de regulación a otro se da a través de mecanismos que gobiernan dicha transición de manera precisa. Es por ello que se ha propuesto a la reostasis como un mecanismo de regulación fisiológica diferente de la homeostasis (figura 1).

Mrosovsky definió a la reostasis como la fisiología del cambio y propuso dos tipos de respuesta: la programada y la reactiva. La reostasis programada parece controlar conductas que dependen de cambios estacionales en la disponibilidad del alimento. Tal es el caso del metabolismo y del peso corporal en los animales que hibernan, lo mismo que las migraciones de los animales, que también se presentan durante el invierno.

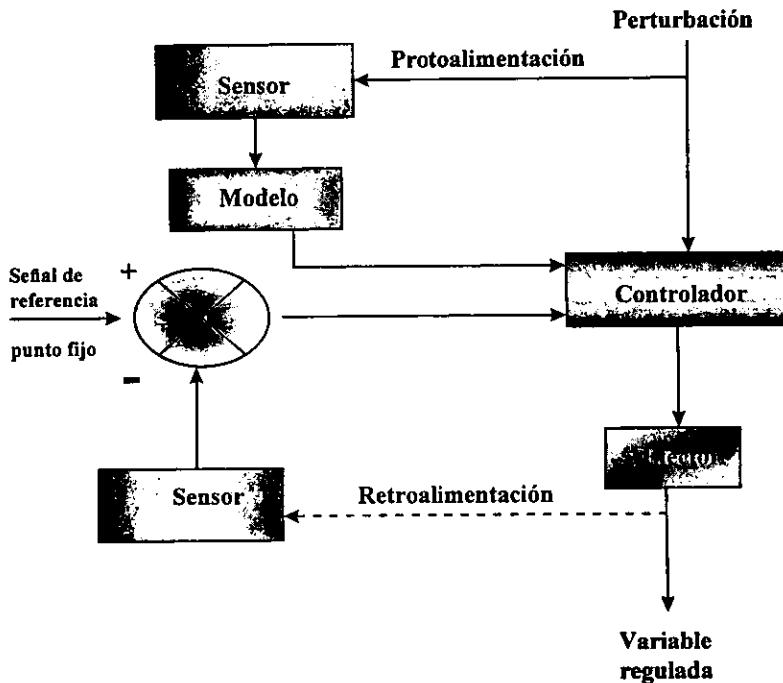


Figura 1. Para permitir la reostasis, las señales externas inciden sobre el modelo de referencia del controlador, lo cual permite un cambio en el nivel de regulación de una variable y promueven una adaptación regulada. Este proceso es característico de la anticipación a las perturbaciones sobre el organismo que requieren modificación del estado homeostático.

De igual modo, en las diferentes etapas reproductivas de todas las especies se ponen en marcha mecanismos reostáticos que controlan procesos tales como el inicio de la pubertad, el peso corporal durante el ciclo estral, el incremento de la temperatura corporal durante la fase lútea del ciclo menstrual y durante la lactancia, la osmoregulación durante el embarazo, etc.

La reostasis reactiva se presenta como respuesta común a estresores tales como los agentes patógenos, las lesiones, el estrés psicogénico, la privación de alimento y la escasez de agua. En estas situaciones los niveles sometidos a regulación cambian rápidamente, en cuestión de horas o menos, lo que tiene valor adaptativo para lograr la sobrevivencia atenuando el estrés (Mrosovsky, 1990).

Respuesta adaptativa al estrés.

Clasificación de los estresores.

La respuesta adaptativa al estrés parece depender de la calidad (físico o emocional), de la intensidad y de la duración (agudo o crónico) del estímulo, así como de la constitución y estado del organismo (De Wied, 1980). Los estresores físicos incluyen las alteraciones del medio interno (anoxia, hipoglucemia, etc) o condiciones externas extremas (frío, calor), así como estresores mixtos (estímulos nocivos, enfermedades, lesiones, ejercicio). Los estresores psicológicos afectan la emoción, produciendo miedo, ansiedad o frustración y se encuentran entre los activadores más potentes del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (Levine et al, 1972; Mason, 1968; Selye, 1950). Cabe mencionar que los estresores pueden ser mixtos y entonces actuar en combinación. Los estresores más utilizados en los experimentos científicos son el ejercicio, la inmovilización, la exposición al frío, la inmersión en agua, los choques eléctricos, la privación de alimento y la anestesia (con diferentes tipos de anestésicos), el hacinamiento, las situaciones que generan ansiedad y la exposición a situaciones novedosas. Todos estos estresores activan de manera efectiva al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal.

En general, la respuesta adaptativa al estrés involucra una reorientación tanto de la conducta como del metabolismo para la obtención de energía a partir de fuentes alternativas (Chrousos et al, 1988). La adaptación conductual es visualizada como la facilitación de las vías neurales adaptativas, y la inhibición de las no adaptativas, que le permiten al organismo enfrentarse con más ventajas al estímulo estresante. Estas respuestas conductuales incluyen el aumento de los umbrales sensitivo y cognoscitivo, incremento del estado de alerta, aumento de la memoria selectiva (Bohus et al, 1983), analgesia (Terman et al, 1984), así como supresión de la ingesta de alimento (Britton et al, 1982) y de la conducta reproductiva (Sirinathsinghji et al, 1984; Sirinathsinghji, 1986; 1987). La adaptación periférica se refiere a la provisión de energía necesaria para enfrentar a los estresores e involucra cambios en los substratos energéticos desde los sitios de almacenamiento hacia la sangre, y cambios cardiovasculares adecuados. Los glucocorticoides, la epinefrina (E) y la norepinefrina (NE) inhiben la absorción celular de glucosa, el almacenamiento de ácidos grasos y la síntesis de proteínas en los sitios de almacenamiento, y estimulan la liberación de los substratos energéticos, incluyendo la glucosa, los aminoácidos y los ácidos grasos libres desde el hígado, el músculo y el tejido graso respectivamente (Munck et al, 1984; Yates et al, 1980). Simultáneamente, se suprimen los procesos anabólicos tales como la digestión, el crecimiento, la reproducción y la función inmunológica (Krieger, 1982).

Mecanismos de la respuesta de estrés.

Sistema Nervioso Autónomo.

Los dos componentes principales de la respuesta general adaptativa son el eje hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal y el sistema locus coeruleus-sistema nervioso

simpático-médula suprarrenal (Gold et al, 1986; Nauta y Feirtag, 1986). Las neuronas del locus coeruleus, localizadas en el tallo cerebral, se activan con estímulos adversos. Durante el estrés agudo por ejercicio físico, inmovilización, exposición al frío o inmersión en agua, se incrementa la velocidad de disparo de las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus, con la consiguiente liberación de NE hacia diferentes áreas del cerebro, como son la corteza cerebral, el sistema límbico, el hipotálamo y el tallo cerebral (Stanford, 1993). Esta activación neuronal se ha reconocido como el componente central de la reacción de alarma (Foote et al, 1980; Stanford, 1993). Al mismo tiempo, la activación del locus coeruleus durante el estrés estimula en la médula suprarrenal, vía la división simpática del sistema nervioso autónomo, la secreción de E y NE hacia la sangre, así como la liberación de NE desde las terminales nerviosas simpáticas (Tilders y Berkenbosh, 1986) estas vías se muestran en la figura 2.

La exposición crónica intermitente a un mismo estresor (ejercicio, inmovilización o exposición al frío) durante varios días o semanas, incrementa la velocidad de síntesis de catecolaminas y aumenta la concentración de catecolaminas en la médula suprarrenal (Kvetňanský et al, 1977; Kvetňanský et al, 1984), y disminuye su liberación (McCarty y Stone, 1984; Stanford, 1993). Durante el estrés crónico los niveles plasmáticos de catecolaminas se incrementan, alcanzan un pico y declinan antes de que cese el estrés (Tilders y Berkenbosh, 1986; Stanford, 1993). A nivel del locus coeruleus, sin embargo, la exposición crónica al estrés parece incrementar la liberación de NE (Stanford, 1993).

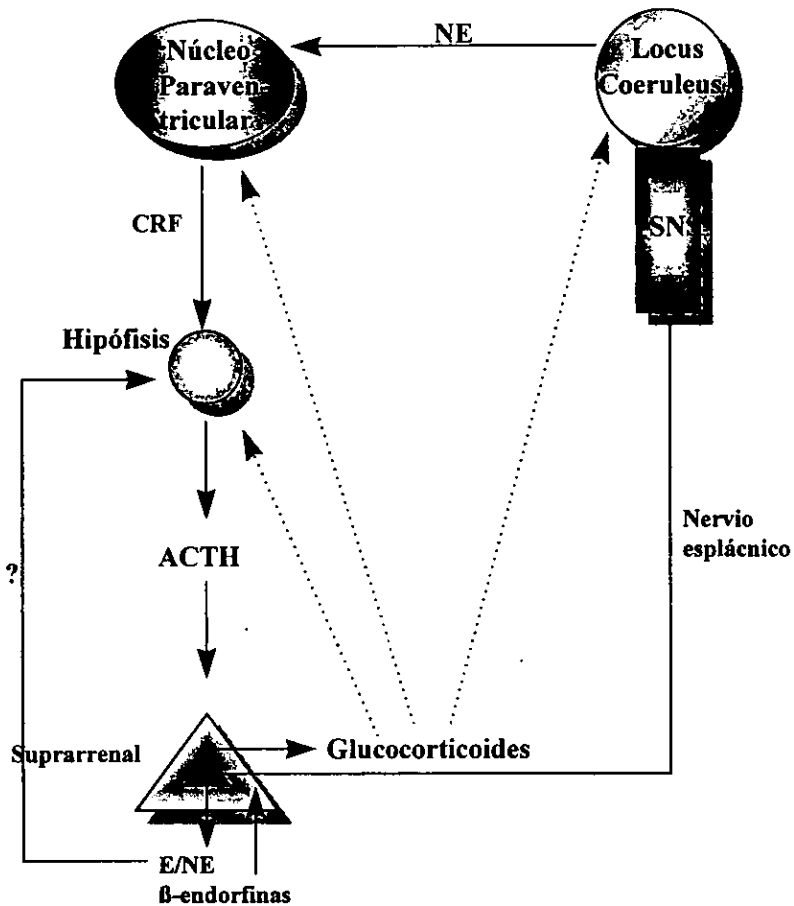


Figura 2. Interrelación funcional del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal con el sistema locus coeruleus-norepinefrina. Estos son los principales efectores centrales de la respuesta de estrés. En la periferia, ambos sistemas actúan a través de los glucocorticoides de la corteza suprarrenal y de las catecolaminas de la médula suprarrenal. Se cree que los glucocorticoides regulan ambos sistemas de la respuesta de estrés para evitar las consecuencias de una exposición prolongada o excesiva. Las líneas continuas representan los efectos estimuladores y las líneas punteadas los efectos inhibitorios. CRF=factor liberador de la corticotropina; ACTH=hormona adrenocorticotrópica; SNS=sistema nervioso simpático; E=epinefrina; NE=norepinefrina.

Las cantidades relativas de E y NE que secreta la médula suprarrenal durante el estrés parecen depender del tipo de estresor, o del tipo de emoción que éste provoca. Así, la secreción de E se ha relacionado con situaciones que provocan miedo, mientras que la ira o la agresión correlacionan con el incremento en la liberación de NE y E (Ax, 1953). La inmovilización provoca aumento en los niveles plasmáticos de E y NE, mientras que un estresor leve como la manipulación, causa incremento de la E plasmática (Axelrod y Raisine, 1984).

Además de las catecolaminas, la médula suprarrenal almacena y libera péptidos opiáceos en especies como el ser humano, el buey y el perro (Evans et al, 1983) y es posible que estos opioides suprarrenales regulen la liberación de catecolaminas suprarrenales (Van Loon et al, 1981; Giraud et al, 1982), además de la liberación de corticosteroides de la corteza suprarrenal (Leslie et al, 1985).

Eje Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenal.

La respuesta al estrés está asociada también con el incremento en los niveles plasmáticos de los glucocorticoides. La secreción de estos esteroides de la corteza suprarrenal está bajo el control de la ACTH que, junto con las β -endorfinas, es liberada del lóbulo anterior de la hipófisis en respuesta a diferentes estresores (Schedlowski et al, 1995). A su vez, la secreción de ACTH y β -endorfinas es regulada por el CRF (Munk et al, 1984; Stanford, 1993), como se muestra en la figura 3.

Factor liberador de la corticotropina (CRF). Este péptido de 41 aminoácidos es sintetizado por las neuronas del núcleo paraventricular (Bloom et al, 1982), las cuales

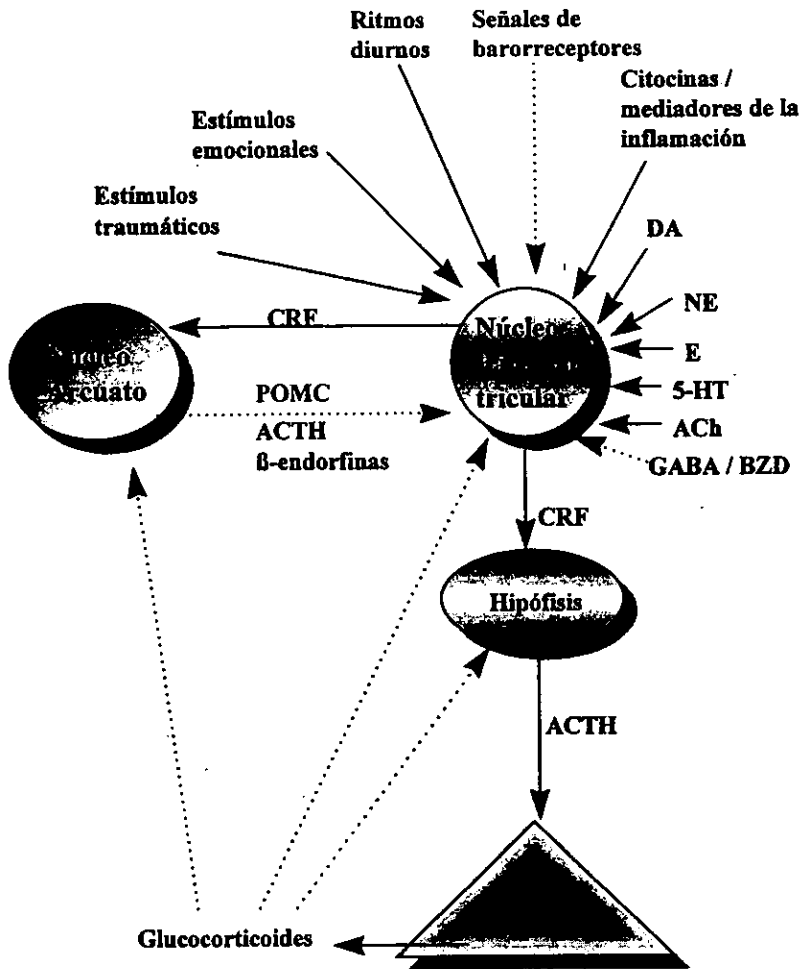


Figura 3. Representación esquemática de la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. El CRF es el efector principal que facilita la respuesta conductual y periférica al estrés estimulando, en última instancia, la secreción de glucocorticoides. La activación de las neuronas secretoras de CRF parece estar regulada por vías centrales inhibitorias y excitadoras centrales, así como por múltiples asas de retroalimentación negativa. Las líneas continuas representan efectos estimuladores y las líneas punteadas representan efectos inhibitorios. CRF=factor liberador de la corticotropina; POMC=proopiomelanocortina; ACTH=hormona adrenocorticotrópica; DA=dopamina; NE=norepinefrina; E=epinefrina; 5-HT=serotonina; ACh=acetil colina; GABA=ácido gama amino butírico; BZD=benzodiazepina.

se proyectan hacia la eminencia media y liberan esta hormona al sistema porta-hipofisiario, a través del cual es transportada hacia la hipófisis anterior. Ahí estimula a los corticotropos para que sinteticen y secreten ACTH. Otro grupo de neuronas productoras de CRF en el núcleo paraventricular envían proyecciones hacia el locus coeruleus, donde estimulan la actividad eléctrica neuronal (Valentino et al, 1986). También se ha detectado CRF en el tallo cerebral, en el mesencéfalo, en el cuerpo estriado, en el hipocampo, en la corteza cerebral, en la médula espinal, en los ganglios simpáticos y en la médula suprarrenal (Suda et al, 1984). Esta amplia distribución de CRF y sus receptores en el sistema nervioso central le permite a este péptido un amplio rango de efectos metabólicos, cardiovasculares y conductuales.

Esta neurohormona estimula la locomoción en ambientes familiares y, en ambientes extraños, provoca una postura de "congelación" (Sutton, 1982). El CRF estimula también el olfateo, el acicalamiento (Morely y Levine, 1982), el erguimiento, la agresión (Koob et al, 1994) y disminuye la conducta sexual (Sirinathsinghji, 1987; Dornan y Malsbury, 1989), la ingesta de alimento (Morely et al, 1982), el sueño (Demura, 1994) y la conducta exploratoria (Berridge y Dunn, 1989; Takahashi et al, 1989).

Hormona Adrenocorticotrópica (ACTH). La proopiomelanocortina (POMC) es la prohormona de la ACTH (Mains et al, 1977). La POMC es sintetizada, además de la hipófisis, en diferentes zonas del cerebro: en el núcleo arcuato del hipotálamo, en la zona incerta, en el septum lateral, en el núcleo acumbens, en el tálamo periventricular, en la sustancia gris periacueductal, en el locus coeruleus, en el núcleo del tracto solitario, en la formación reticular, en la estría terminal y en la amígdala medial (Sawchenko et al, 1984). También se sintetiza en el tracto gastrointestinal y en los

órganos reproductivos (Shu-Dong et al, 1982; Boitani et al, 1986). En la hipófisis la POMC se rompe en ACTH y en una β -lipoproteína, la cual a su vez se rompe en fragmentos, uno de los cuales es la β -endorfina (Feldman et al, 1997).

La ACTH es transportada por la circulación sistémica hasta la glándula suprarrenal, donde estimula la síntesis y secreción de glucocorticoides, de aldosterona, así como de andrógenos adrenales. La ACTH tiene también efectos conductuales, pues incrementa la atención, la motivación, el aprendizaje y la memoria (De Wied, 1980). Además, altera la conducta social en la rata, reduciendo la interacción social y la agresión. Asimismo, induce el acicalamiento ante los estímulos novedosos o estresantes (Gispen et al, 1973) y reduce la exploración en ambientes novedosos (File, 1978).

Glucocorticoides. La ACTH actúa en la corteza suprarrenal estimulando, a través del incremento en los niveles intracelulares de AMPcíclico, la actividad enzimática de una lipasa que cataliza el rompimiento de la cadena lateral del colesterol, con lo que se inicia la síntesis de hormonas corticosteroides (Haynes y Berthet, 1957; Gill, 1972; Yates et al, 1980). Por otra parte, bajo la acción estimuladora de la ACTH, los glucocorticoides son liberados de la corteza suprarrenal hacia la circulación general. Aproximadamente el 95% del cortisol circulante está unido a una α -globulina llamada transcortina. La pequeña fracción libre de cortisol en el plasma es la fracción activa que ejerce retroalimentación negativa sobre la liberación de CRF y ACTH (Siiteri et al, 1982). Estas hormonas ejercen muchos y muy variados efectos sobre la función cardiovascular, el metabolismo y el sistema inmune (Chrousos et al, 1988). Los glucocorticoides actúan en el hígado incrementando las síntesis de las enzimas que

favorecen la gluconeogénesis (síntesis de glucosa a partir de aminoácidos). La glucosa sintetizada "de novo" es liberada a la circulación general. Los glucocorticoides inhiben además la absorción de glucosa y de aminoácidos por el músculo, y a su vez, éste libera sus aminoácidos a la circulación. Los glucocorticoides también estimulan la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo. Estos efectos metabólicos dan como resultado el incremento de los niveles de glucosa sanguínea, aumentando la disponibilidad de energía para el sistema nervioso. Asimismo, los glucocorticoides inhiben la respuesta inflamatoria, incrementan la presión arterial normal y provocan inmunosupresión (Yates et al, 1980).

Las acciones de los glucocorticoides en el sistema nervioso central están mediadas por dos tipos de receptores, I y II. Los receptores del tipo I se encuentran principalmente en las neuronas del septum y del hipocampo y su función es modular las respuestas a los estímulos ambientales y emocionales, con los consecuentes cambios en la conducta y en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. Estos receptores tienen alta afinidad por la corticosterona y el cortisol (Reul y DeKloet, 1985). Los receptores del tipo II para glucocorticoides se encuentran en altas concentraciones en el hipotálamo, particularmente en las neuronas CRF del núcleo paraventricular. También se localizan en áreas cerebrales que contienen POMC, tales como el núcleo arcuato, el hipocampo, el septum lateral, la amígdala y el núcleo del tracto solitario. En estas regiones, es posible que estos receptores participen en las respuestas conductuales, neuroendócrinas y autonómicas del estrés (Sapolsky et al, 1986; De Kloet y Joëls, 1991). Durante el estrés, la ocupación de los receptores de tipo I cambia mínimamente, mientras que la ocupación de los receptores de tipo II aumenta considerablemente (Reul et al, 1985). Los glucocorticoides ejercen retroalimentación

negativa, suprimiendo en la hipófisis la secreción de ACTH y en el hipotálamo, la secreción de CRF a través de los receptores de tipo II (Keller-Wood y Dallman, 1984). Por su parte, la ACTH y las β -endorfinas inhiben la secreción de CRF en el hipotálamo (Calogero et al, 1988). Estos mecanismos le permiten al organismo mantener estables los niveles circulantes de glucocorticoides y al mismo tiempo le dan al sistema nervioso la capacidad de responder a los estresores en todo momento.

Variaciones circádicas en los niveles plasmáticos de glucocorticoides. En los seres humanos, así como en otras especies animales, la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal varía de manera circádica. En el humano, los niveles plasmáticos de cortisol se encuentran en su máximo al amanecer y después van declinando progresivamente hasta llegar al mínimo cuando comienza la noche (Atcheson y Tyler, 1975; Horrocks et al, 1990). En los animales de hábitos nocturnos, como la rata, se observa un patrón invertido en los niveles plasmáticos de corticosteroides, con un pico de corticosterona al inicio de la fase de oscuridad, antes del período de actividad nocturna; los valores más bajos en los niveles plasmáticos de corticosteroides se presentan al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/oscuridad (Critchlow et al, 1963).

Las variaciones circádicas observadas en los glucocorticoides se deben a la ritmicidad circadiana del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (Engeland et al, 1977) y se ha demostrado que la sensibilidad de la corteza suprarrenal a la ACTH varía también de manera circádica (Dallman et al, 1978; Engeland et al, 1981; Ferrari et al, 1982; Amsterdam et al, 1989). Asimismo, la liberación de ACTH a diferentes estímulos

estresantes en las ratas es mayor al inicio de la fase de luz (cuando la actividad espontánea es mínima), y la respuesta es mínima al inicio de la fase de oscuridad (cuando la actividad espontánea es máxima; Engeland et al, 1977). Asimismo, la sensibilidad de los corticotropos hipofisarios a los corticosteroides en la rata cambia con la hora del día, siendo mayor en la mañana (cuando los niveles están en el mínimo) y menor en la noche (cuando los niveles están en el máximo; Akana et al, 1986).

Consecuencias del estrés sobre la función reproductiva.

La respuesta endócrina del estrés no se limita solamente a la activación del eje hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal y del sistema locus coeruleus-simpático-médula suprarrenal, sino que también involucra al sistema hipotálamo-hipófisis-gónada. La actividad reproductiva es una de las principales funciones que se alteran e inactivan durante las respuestas de adaptación a diferentes estados de estrés. Debido a las complejas interacciones entre el cerebro, la hipófisis, las gónadas y los órganos blanco en la regulación del sistema reproductor, tanto femenino como masculino, éstos son sensibles a cualquier desajuste provocado por agentes o estímulos nocivos que actúen a diferentes niveles. Los agentes ambientales que afectan la función gonadal (ovárica o testicular), lo hacen principalmente a nivel del sistema nervioso central, provocando así un desajuste en el patrón de secreción de las hormonas gonadotrópicas hipofisarias y/o de la conducta reproductiva (Armstrong, 1986).

Los sistemas responsables de la reproducción, del crecimiento y de la inmunidad están ligados directamente al sistema de estrés, y cada uno de ellos es influenciado por los efectores de la respuesta de estrés. El estrés crónico puede tener consecuencias

fisiológicas y conductuales, las cuales afectan el bienestar del individuo. Estas incluyen el envejecimiento acelerado, la inmunosupresión, el retardo del crecimiento, así como la supresión de la función reproductiva.

En 1946, Selye sugirió que la exposición crónica a los estresores incrementa la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y concomitantemente deprime la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Desde entonces la atención se ha enfocado en el papel que tienen los glucocorticoides en la mediación de la disfunción reproductiva inducida por el estrés y consistentemente se ha observado esta relación antagónica entre los glucocorticoides y las hormonas gonadales en las respuestas de estrés.

ANTECEDENTES

En los machos, el estrés suprime la secreción de testosterona (Collu et al, 1979; 1984a; 1984b), así como la espermatogénesis y la motivación sexual (Keberne, 1979; Abbott, 1984; Sapolsky et al, 1986; Rabin et al, 1988). La alteración de la función reproductiva provocada por el estrés se ha atribuido a algunos de los mediadores químicos que son secretados durante estas situaciones, tales como el CRF (Rivier et al, 1986; Rivier y Rivest, 1991), la ACTH (López-Calderón et al, 1990), las β -endorfinas (Dorman y Malsbury, 1989) y los glucocorticoides (Doerr y Pirke, 1976), los cuales pueden inhibir la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Aunque el o los mecanismos de dicha inhibición aún no están totalmente comprendidos, éstos pueden ser: 1) la inhibición de la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (LHRH), mediada centralmente por el CRF, los opioides endógenos y los

glucocorticoides (Rivier y Vale, 1984; Rivier et al, 1986; MacLusky et al, 1988); 2) la disminución en la capacidad de respuesta de la hipófisis a la LHRH, mediada por los glucocorticoides, provocando la disminución en la secreción de hormona luteinizante (LH; Hagino et al, 1969; Rivier et al, 1991); 3) efectos gonadales directos de los glucocorticoides sobre las gónadas, con la subsecuente disminución en la liberación de esteroides sexuales (Bambino y Hsueh, 1981; Orr y Mann, 1990; Orr et al, 1994; Hardy y Ganjam, 1997) y 4) la resistencia de los tejidos blanco de los esteroides gonadales, inducida por los glucocorticoides (Ravin et al, 1990); estas vías se muestran en la figura 4.

Se ha propuesto que el mecanismo más probable de la supresión de la actividad reproductiva por el estrés involucra al CRF, el cual podría inhibir la secreción de las gonadotropinas directa y/o indirectamente a través de los opioides endógenos, ya que el efecto inhibitorio del CRF sobre la secreción de LH es bloqueado por suero anti β -endorfinas y por antagonistas de estos opioides (Johnson et al, 1992). Otros mecanismos mediante los cuales la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal puede alterar la función reproductiva durante el estrés es por efectos directos de los glucocorticoides a diferentes niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Así, la administración de ACTH o de hormonas suprarrenales como el cortisol reduce la concentración plasmática de LH en los toros (Johnson et al, 1982). De manera similar, los hombres que reciben terapia con glucocorticoides para tratar ciertas enfermedades presentan disminución en la secreción de testosterona y alteración en la respuesta de LH a la LHRH (Ringstrom et al, 1991). Por otra parte, los glucocorticoides disminuyen la sensibilidad de las células de Leydig a la LH, posiblemente disminuyendo los receptores testiculares para LH (Charpenet et al, 1982).

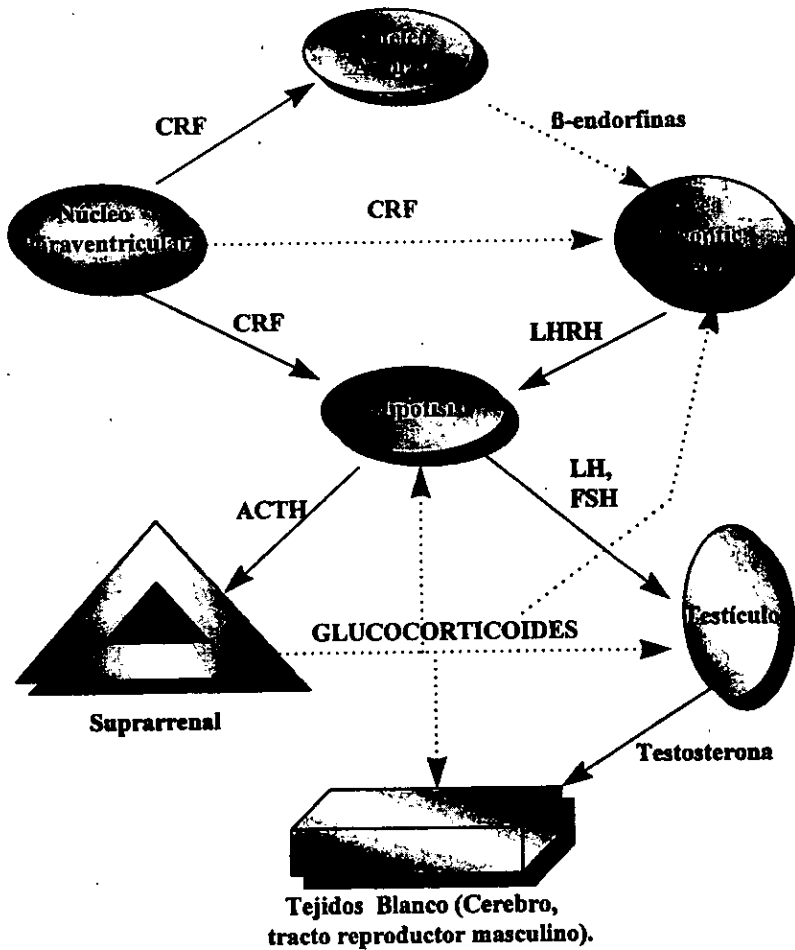


Figura 4. Interrelación funcional entre el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y el eje hipotálamo-hipófisis-gónada. El CRF activa al primero y la LHRH al segundo. La actividad de las neuronas secretoras de LHRH es inhibida durante el estrés por el CRF directamente o bien, a través de la liberación de β -endorfinas del núcleo arcuato. Los glucocorticoides suprimen la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gónada a todos los niveles y en los tejidos blanco de los andrógenos. Las líneas continuas representan efectos estimuladores y las líneas punteadas efectos inhibidores. CRF=factor liberador de la corticotropina; LHRH=hormona liberadora de las gonadotropinas; ACTH=hormona adrenocorticotrópica; LH=hormona luteinizante; FSH=hormona foliculoestimulante.

Estas evidencias apoyan la hipótesis de que la respuesta suprarrenal durante el estrés altera la reproducción masculina disminuyendo la sensibilidad de la hipófisis a la LHRH.

Estrés agudo y neuroendocrinología reproductiva masculina.

Los estudios realizados en ratas, ratones y seres humanos muestran que el perfil de las modificaciones hormonales provocadas por la exposición aguda (desde unos cuantos segundos hasta tres horas), a estresores como la inmovilización (Torrellas et al, 1981), los choques eléctricos en las patas (Natelson et al, 1981; Prince y Anisman 1990; Rivest y Rivier, 1991), la exposición al frío o al éter (Lesniewska et al, 1990), el ejercicio (Elias et al, 1991), la privación de alimento (De Boer et al, 1989) o las situaciones que producen ansiedad en los machos (Schedlowski et al, 1995) está caracterizado por el incremento en la secreción de CRF, ACTH, β -endorfinas y corticosterona o cortisol, esto último según la especie. Asociados con estos efectos sobre el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, se ha observado que el estrés agudo por ruido o inmersión en agua (Armario et al, 1986), inmovilización (Charpenet et al, 1982; López-Calderón et al, 1990), exposición al frío (Lennox et al, 1980), al calor (Siegel et al, 1981), a la luz (Armario y Castellanos, 1984), a la cirugía (Gray et al, 1978; Frankel y Ryan, 1981) y la anestesia con nembutal (Ajika et al, 1972) afecta al eje hipotálamo-hipófisis-gónada, provocando el aumento de los niveles plasmáticos de LH, hormona foliculo estimulante (FSH), prolactina (PrI) y testosterona en los machos así estresados.

En especies como el conejo, los macacos y los babuinos ocurre lo contrario, ya que en estas especies los niveles plasmáticos de LH y testosterona disminuyen frente al

estrés agudo por inmovilización (Farabollini et al, 1978; Sapolsky y Krey, 1988; Norman y Smith, 1992). En el hamster, el estrés agudo por inmovilización no modifica los niveles de testosterona (Tsuchiya y Horii, 1995a). En los seres humanos los efectos del estrés agudo por ejercicio son contradictorios, ya que en algunos casos se reporta disminución en los niveles plasmáticos de testosterona (Elías et al, 1991; Tsopanakis et al, 1994), en otros se observa disminución en los niveles de esta hormona (Oka y Hirano, 1987; Wheeler et al, 1994) o no se modifican (Yap et al, 1996), debido probablemente a diferencias individuales, o bien de las condiciones en que se efectúa el ejercicio (Booth et al, 1989; Tsopanakis et al, 1994). La cirugía (Reiner et al, 1987) y el estrés psicológico agudo (Hellerhammer et al, 1985) deprimen los niveles de testosterona en el plasma y en la saliva.

Estrés crónico y neuroendocrinología reproductiva masculina.

El estrés crónico (considerado desde seis horas hasta varios días) por inmovilización (Collu et al, 1979; Taché et al, 1980; Dobrakovová et al, 1982; Collu et al, 1984a; 1984b), los choques eléctricos intermitentes aplicados en las patas (Rivier et al, 1986; Ishikawa et al, 1992), el ejercicio prolongado (Watanabe et al, 1991), la iluminación constante (Persengiev et al, 1991), el nado forzado en agua fría (Bidzinska et al, 1993), el ruido, la falta de alimento (De Boer et al, 1989), el hacinamiento y el estrés social (Mormède et al, 1990; Monder et al, 1994) provocan disminución en el contenido hipotalámico de CRF, aumento en los niveles plasmáticos de ACTH y glucocorticoides, así como un efecto generalmente inhibitorio sobre la función hipófiso-gonadal en las ratas macho, a través de la disminución en los niveles plasmáticos de LH y de

testosterona. De esta manera, en la rata macho los niveles plasmáticos de LH y testosterona se modifican de manera bifásica, pues en el estrés agudo los niveles de estas hormonas se elevan en la sangre, mientras que en el estrés crónico disminuyen (Gray et al, 1978; Taché et al, 1978; Collu et al, 1979; Charpenet et al, 1982; Collu et al, 1984a; 1984b; Taylor et al, 1987; González-Quijano et al, 1991). Esta respuesta bifásica no se presenta en el hamster, ya que la testosterona no se modifica durante el estrés agudo (Tsuchiya y Horii, 1995 a), mientras que durante el estrés crónico el nivel de esta hormona en la sangre disminuye (Tsuchiya y Horii, 1995b). En los seres humanos, el estrés crónico por entrenamiento militar (Opstad, 1994), el ejercicio intenso o la privación de sueño (Remes et al, 1985) durante cinco días causa la elevación de los niveles de cortisol y la concomitante disminución de los niveles circulantes de testosterona.

El mecanismo neuroendócrino responsable de la supresión de la testosterona parece ser la disminución en la secreción hipofisiaria de LH (Gray et al, 1978; Collu et al, 1979; Sapolsky, 1988; González-Quijano et al, 1991; Rivest y Rivier, 1991), que resulta de la inhibición en la secreción de la LHRH, mediada centralmente por otras hormonas que son secretadas durante el estrés, específicamente CRF, ACTH, β -endorfinas y glucocorticoides, y estos últimos pueden actuar a todos los niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (MacLusky et al, 1988; Barbarino et al, 1989; Johnson et al, 1992).

Como se sabe, la expresión de la conducta sexual masculina depende principalmente de la testosterona (Meisel y Sachs, 1994), cuya secreción se suprime durante el estrés. Por ello, es probable que las alteraciones neuroendócrinas provocadas por el estrés afecten directa o indirectamente a la conducta sexual.

Aunque existen numerosos estudios acerca de la disminución en la secreción de gonadotropinas y de testosterona en los machos por efecto de distintos estresores, en muy pocos estudios se ha establecido alguna correlación entre el incremento de los corticosteroides suprarrenales y la supresión de testosterona y de la conducta sexual masculina por efecto del estrés. Se ha reportado que el incremento de los esteroides suprarrenales, además de suprimir los niveles circulantes de andrógenos, pueden inhibir conductas reproductivas y territoriales en los anfibios (Kime et al, 1980; Moore y Miller, 1984), en los reptiles (Tokarz, 1987), en las aves (Wingfield, 1985) y en los mamíferos (Moberg, 1985; Sapolsky, 1987; Colborn et al, 1991).

La inhibición de la conducta sexual masculina se ha estudiado principalmente en el contexto del estrés social. Los machos subordinados de la mayoría de los grupos sociales experimentan estrés debido a su baja posición social, pues están sujetos a los ataques y amenazas de los animales de mayor rango. Por lo tanto, los machos subordinados no despliegan conductas reproductivas como lo hacen los animales dominantes. Keverne (1979) ha descrito que cuando un mono macho es colocado en un grupo social constituido por machos adultos y hembras receptivas, los machos dominantes exhiben un aumento en sus conductas agresiva y sexual, las cuales coinciden con el incremento en las concentraciones plasmáticas de LH y de testosterona. En contraste, en los machos subordinados no aumenta la conducta sexual o la agresiva, ni los niveles de LH o de testosterona. Sin embargo, cuando un macho subordinado es transferido de su grupo a un nuevo grupo social, constituido solamente por él y por hembras en estro, aumentan las concentraciones plasmáticas de LH y testosterona; en ausencia de otros machos que compitan con él, exhibe una conducta sexual normal.

Esta tesis se avoca básicamente al estudio de los efectos que el estrés causa sobre la conducta sexual masculina en la rata, por lo que a continuación se describe dicho patrón copulatorio.

Conducta sexual masculina de la rata.

La conducta sexual masculina en la rata está caracterizada por una serie de montas, con o sin inserción del pene en la vagina, que se presentan aproximadamente cada 30 a 90 segundos y que culminan con la eyaculación. La hembra receptiva responde a cada monta con una lordosis, que es una dorsoflexión con elevación de la zona perineal, permitiendo al macho el acceso a la vagina (Larsson, 1978).

En presencia de una hembra receptiva, un macho adulto, vigoroso y sexualmente experto inmediatamente se acerca a ella y la monta. Durante la monta, el macho apoya una de sus patas traseras en el suelo y con sus patas delanteras palpa los flancos de la hembra antes de iniciar movimientos pélvicos rápidos. Esta palpación tiende a intensificar la postura receptiva de la hembra. En las montas no hay inserción del pene en la vagina y el macho desmonta a la hembra lentamente (Meisel y Sachs, 1994).

A diferencia de las montas, durante la intromisión sí hay inserción del pene en la vagina. En la rata es difícil observar la intromisión y en este caso lo que se evalúa es el patrón motor que está asociado con la inserción del pene en la vagina. Los patrones de intromisión se distinguen conductualmente de las montas por la presencia de movimientos pélvicos profundos seguidos de una desmonta violenta, durante la cual las patas delanteras del macho hacen un movimiento lateral rápido. La duración promedio de cada intromisión es de 300 mseg en la rata (Peirce y Nuttal, 1961). Durante la intromisión la hembra no sólo responde con una lordosis, también mueve su región perineal hacia el macho para facilitar la intromisión (Meisel y Sachs, 1994). Después de cada intromisión, el macho acicala sus genitales. Entre una intromisión y otra hay un

intervalo de tiempo de 15 a 90 segundos. Comúnmente, el macho alcanza la penetración peneana vaginal en el 50 a 80 % de las montas. Después de seis a doce intromisiones, ocurre la eyaculación. El patrón eyaculatorio se caracteriza por movimientos pélvicos espasmódicos durante uno a tres segundos, dependiendo de la serie copulatoria de que se trate (Peirce y Nuttal, 1961). La expulsión del semen ocurre en un periodo de tiempo muy breve, coincidiendo con uno o dos movimientos pélvicos. La eyaculación es seguida de una desmonta lenta y un movimiento lateral de las patas delanteras. La eyaculación ocurre después de seis a doce intromisiones y es seguida de un intervalo de autoacicalamiento genital, después del cual el macho entra en un periodo de inactividad sexual que dura de cinco a diez minutos y que se conoce como periodo o intervalo posteyaculatorio. Después de este periodo el macho vuelve a montar a la hembra iniciando otra serie copulatoria compuesta de un número menor de intromisiones y eyacula por segunda vez. Este patrón conductual se repite por cinco a diez veces (o más) antes de que el macho llegue a la saciedad sexual (Larsson, 1978; Bitran y Hull, 1987; Meisel y Sachs, 1994).

El carácter estereotipado del patrón copulatorio de la rata macho ha permitido estandarizar un grupo de indicadores conductuales que permiten evaluar la expresión de la conducta sexual masculina de forma cuantitativa. En un registro de conducta sexual en ratas machos, los parámetros que se evalúan son los siguientes:

- Latencias de monta y de intromisión. Es el tiempo que pasa desde la introducción de la hembra a la arena de apareamiento hasta la primera monta (LM) o intromisión (LI), identificada cada una por sus respectivos patrones motores.
- Número de montas y de intromisiones. Es el número de montas (NM) o de intromisiones (NI) que se presentan antes de cada eyaculación.
- Latencia de eyaculación (LE). Es el tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta la eyaculación dentro de una serie copulatoria.

- Intervalo posteyaculatorio (IPE). Es el tiempo transcurrido entre la eyaculación de una serie copulatoria y la primera intromisión de la siguiente serie copulatoria.

También se calculan algunos índices que son:

- Tasa de aciertos o Hit rate (HR), también definido como eficiencia copulatoria. Es el número de intromisiones dividido entre el número de intromisiones más el número de montas que se presentan antes de una eyaculación.
- Intervalo interintromisión promedio (IIP). Es el intervalo de tiempo que hay entre cada intromisión en una serie copulatoria. Este se calcula dividiendo la latencia de eyaculación entre el número de intromisiones.
- Frecuencia de eyaculación. Es el número de eyaculaciones que tiene un macho durante un tiempo determinado de observación de la conducta sexual masculina (Meisel y Sachs, 1994).

A la serie de eventos conductuales que se presentan desde la primera monta o intromisión hasta la eyaculación, se le denomina serie eyaculatoria. Cuando se incluye al intervalo posteyaculatorio en la serie, ésta recibe el nombre de serie copulatoria (figura 5).

En la conducta sexual masculina se analizan dos componentes principales que son: la motivación sexual y la eficiencia o rendimiento copulatorio. La motivación sexual induce al macho a buscar el contacto con una compañera sexual. De todos los parámetros del patrón copulatorio masculino, la latencia de monta se considera la medida más directa de motivación sexual del macho porque no asume que éste tenga una erección peneana o que la hembra adopte una posición que le permita al macho montarla. El intervalo interintromisión también se considera como un indicador de la motivación sexual que sigue a la breve refractoriedad inducida por cada intromisión (Sachs y Garinello, 1979).

PATRÓN COPULATORIO DE LA RATA MACHO

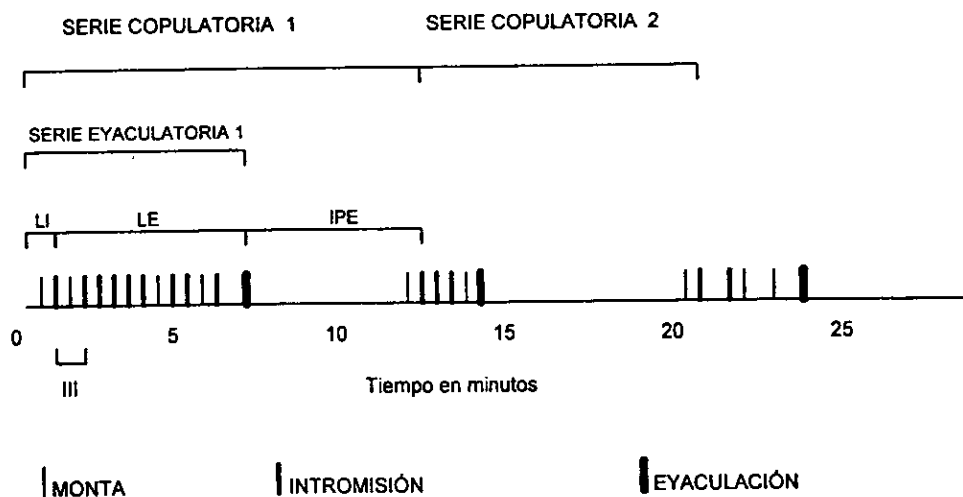


Figura 5. Curso de los eventos durante la copulación en ratas machos con experiencia sexual. LI = latencia de intromisión, LE = latencia de eyaculación, IPE = intervalo posteyaculatorio.

El rendimiento copulatorio se refiere a la capacidad de completar el acto copulatorio y se mide a través del número de montas y la tasa de aciertos. El aumento del número de montas puede deberse a la disminución en la sensibilidad peneana o de su capacidad eréctil, o bien a la presencia de una hembra poco receptiva o una mezcla de éstos y otros factores (Sachs y Barfield, 1976).

La tasa de aciertos está muy relacionada con el número de montas; refleja la eficiencia copulatoria y es sensible a los tratamientos que afectan la capacidad eréctil o la sensibilidad peneana (Meisel y Sachs, 1994).

Eyaculación. Las medidas conductuales de la eyaculación son el número de intromisiones y la latencia de eyaculación; se considera que estas dos medidas evalúan el umbral eyaculatorio, el cual es definido como el número de intromisiones y el tiempo que requiere un animal para alcanzar la eyaculación (Sachs, 1978).

El potencial copulatorio del macho puede medirse a través del número de eyaculaciones que ocurren dentro de un tiempo determinado de registro conductual sexual o por el número de eyaculaciones que ocurren antes de alcanzar el criterio de saciedad sexual (Beach y Jordan, 1956).

La conducta sexual masculina está regulada por factores endócrinos y nerviosos. Dentro de la regulación hormonal, la testosterona tiene un papel central, ya que la castración de machos de diferentes especies como la rata, el conejo, el mono y el hombre elimina los niveles circulantes de esta hormona, lo que causa que la conducta sexual masculina disminuya hasta perderse al cabo de algunas semanas (Davidson, 1966; Agmo, 1976). Los efectos de la castración se revierten con la administración de testosterona (Larsson, 1978). Otros andrógenos como la androstendiona y la dihidrotestosterona son también importantes para la expresión y el mantenimiento de la cópula en los machos (Södersten, 1975). Los efectos facilitatorios de la testosterona sobre la conducta sexual masculina en la rata se deben a la aromatización de esta hormona para convertirla en estradiol dentro del sistema nervioso central (Beyer et al, 1973; 1976). Los andrógenos son importantes también en la regulación de los reflejos peneanos como la erección (Hart et al, 1983), ya que ésta se reduce pocos días después de la castración y se elimina en semanas (Davidson et al, 1978).

El sistema nervioso central es un importante sitio de acción de las hormonas gonadales para la activación de la conducta sexual. Diversos estudios muestran que la implantación de testosterona en diversas zonas cerebrales como el Area Preóptica media (APOm) y el hipotálamo estimula la copulación en los machos castrados, los cuales presentan incluso patrón eyaculatorio. El APOm es la zona más sensible a los

implantes de testosterona (Fisher, 1956; Smith et al, 1977), y es ahí donde se concentra una gran cantidad de receptores a este andrógeno (Sar y Stumpf, 1973).

En la figura 6 se muestran las principales vías nerviosas centrales que intervienen en la regulación de la conducta sexual masculina: las vías aferentes del bulbo olfatorio llevan información a la amígdala y de ahí al APOm directamente o a través del núcleo basal de la estria terminal.

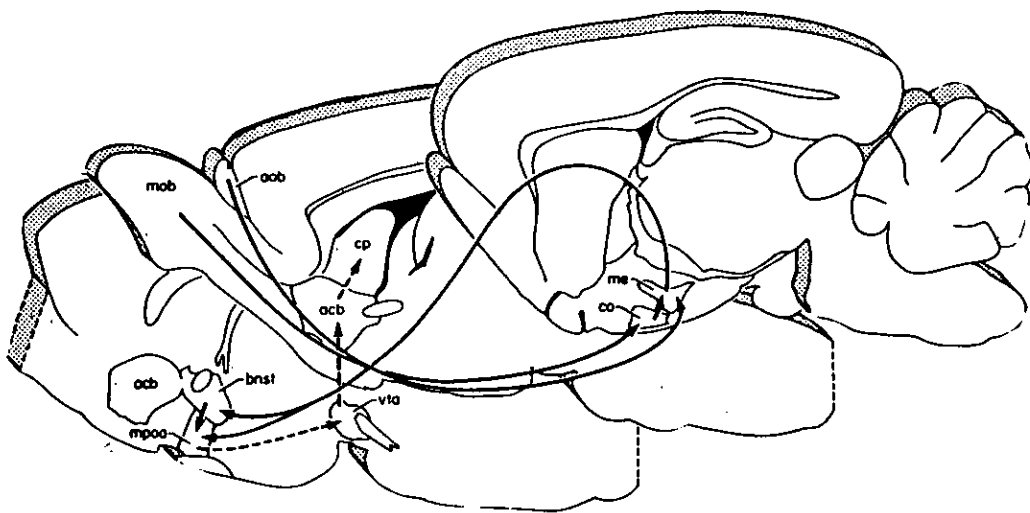


Figura 6. Vías neurales que regulan la conducta sexual masculina. Se muestran sólo algunas de las aferencias más relevantes hacia el área preóptica, principalmente las que provienen de la amígdala medial. Abreviaturas: acb=núcleo acumbens; aob=bulbo olfatorio accesorio; bnst=núcleo basal de la estria terminal; mob=bulbo olfatorio principal; co=amígdala cortical; cp=putamen-caudado; me=amígdala medial; mpoa=área preóptica media; vta=área tegmental ventral. (Tomado de Mogenson et al, 1980).

En el APOm se integra la información tanto interna (el estado endócrino del animal) como externa (por ejemplo, la presencia de una hembra receptiva). De aquí se envía la información eferente al sistema motor estriatal a través del área tegmental ventral, iniciándose así una conducta sexual motora (Meisel y Sachs, 1994).

Estrés y conducta sexual masculina.

La conducta sexual en los machos es probablemente el aspecto reproductivo más sensible a los efectos del estrés, ya que es sensible aún a los estresores agudos. En la rata, el estrés agudo provocado por choques eléctricos en la piel o el pinchamiento de la cola tiene un efecto facilitador inmediato en el componente motivacional de la conducta sexual masculina, acortando las latencias de monta e intromisión, así como el intervalo interintromisión (Larsson 1963; Barfield y Sachs, 1968; Caggiula 1972; Goldfoot y Baum 1972; Sharma y Hays, 1974; Schoelch y Barfield, 1976; Meisel et al, 1980; Wang y Hull, 1980). Sin embargo, los efectos que producen diferentes estresores sobre este patrón conductual varían de acuerdo al tipo de estresor utilizado, ya que se ha reportado que el estrés agudo por IMOV afecta negativamente la conducta sexual masculina, incrementando las latencias de intromisión y de eyaculación, así como las frecuencias de monta e intromisión, lo mismo que el período refractario, además de disminuir la frecuencia eyaculatoria (Menéndez-Paterson et al, 1978). Estos datos indican que los organismos responden de manera distinta a los estresores, dependiendo del tipo y duración de éstos, de modo que la magnitud de las respuestas tanto conductuales como neuroendócrinas puede también ser diferente.

En relación a los efectos causados por el estrés crónico sobre la conducta sexual masculina, la información es escasa. Los estudios realizados en los hombres muestran que las enfermedades crónicas o el estrés psicológico crónico causado por problemas en el trabajo o con la pareja (Frajese et al, 1990), o bien los vuelos espaciales prolongados (Popova et al, 1989) provoca el incremento en los niveles plasmáticos de cortisol y de las β -endorfinas y disminuye los niveles de testosterona. Asimismo, estos estresores provocan disminución del deseo sexual (libido) e impotencia o disfunción eréctil (Frajese et al, 1990).

La disminución de la conducta sexual masculina en las situaciones de estrés crónico parece estar mediada por las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (CRF, ACTH y glucocorticoides) y por las β -endorfinas. Los efectos del estrés en la conducta sexual masculina se han reproducido experimentalmente en algunas especies mediante la administración de hormonas pertenecientes al eje hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal. La administración de corticosterona o de CRF en las ranas macho reduce, de manera dosis-dependiente, la incidencia del cortejo por parte de los machos (Moore y Miller, 1984; Orchinik et al, 1988). De manera similar, la microinyección de CRF en el tercer ventrículo cerebral en ratas macho causa aumento, dosis dependiente, de las latencias de monta, de intromisión y de eyaculación, así como del número de montas y de intromisiones (Sirinathsinghji, 1987). Los efectos del CRF sobre la conducta sexual masculina parecen estar mediados por los opioides endógenos, específicamente las β -endorfinas, ya que la administración intraventricular del antagonista opiáceo naloxona bloquea los efectos del CRF en la conducta sexual masculina (Sirinathsinghji, 1987).

Las β -endorfinas se localizan en diferentes regiones cerebrales como el núcleo arcuato, el núcleo paraventricular y el APOm, entre otras (Sanaka et al, 1989). Este sistema de opioides endógenos se activa en respuesta a estresores como la inmovilización, la inmersión o los choques eléctricos y, al mismo tiempo, los niveles de estos opioides se incrementan en la sangre (Millan et al, 1981; Owens y Nemeroff, 1988; Young, 1990). Dichos estresores estimulan la velocidad de biosíntesis de la prohormona de las β -endorfinas, la POMC, así como la liberación de estos opioides desde el núcleo arcuato (Rosier et al, 1977).

Los opioides inhiben la conducta sexual masculina cuando se administran por vía periférica o central, directamente en el APOm, incrementando las latencias de monta, de intromisión y de eyaculación y estos efectos inhibitorios desaparecen con la administración de antagonistas opiáceos como la naloxona o la naltrexona (Pfaus, Gorzalka, 1987; Dornan, Malsbury, 1989). El uso de opioides por tiempo prolongado se ha asociado con el deterioro de la función sexual en los hombres, reflejada por el retraso en la eyaculación, disminución en el volumen del eyaculado, anorgasmia, impotencia y, en algunos casos, infertilidad (Greenberg, 1984). Estas evidencias sugieren que los opioides endógenos podrían estar relacionados con los efectos del estrés sobre la conducta sexual masculina.

Planteamiento del problema.

En conjunto, las evidencias experimentales muestran que la respuesta de estrés no es inespecífica, sino que depende de las características del estresor que la desencadena y que las hormonas que participan en la respuesta humoral del estrés

responden de manera distinta a los diferentes estresores. Los niveles plasmáticos de testosterona se alteran de manera bifásica de acuerdo a la duración del estresor (aguda ó crónica) al que son sometidas las ratas. Considerando que esta hormona es necesaria para la expresión de la conducta sexual masculina, es probable que las modificaciones en la testosterona plasmática se relacionen con las alteraciones en la conducta sexual masculina por efecto del estrés.

La existencia de una relación antagónica entre los glucocorticoides y la testosterona puede explicar en parte los efectos negativos que el estrés provoca sobre la conducta sexual masculina y es probable que este efecto también dependa de las características y de la duración del estresor.

Por otro lado, el hecho de que las β -endorfinas se liberen en el hipotálamo por efecto del estrés por inmersión y por choques eléctricos, y que los antagonistas opiáceos bloqueen los efectos del CRF sobre la conducta sexual masculina, sugiere que estos opioides también pueden estar involucrados en los efectos del estrés sobre la conducta sexual de la rata macho. Tomando en cuenta lo anterior, en este trabajo se propone la siguiente:

HIPÓTESIS

Las alteraciones provocadas por los estresores sobre la conducta sexual masculina son diferentes y dependen del tipo de estresor aplicado. Dichas alteraciones están mediadas por el aumento en los niveles plasmáticos de corticosterona y por la disminución en los niveles de testosterona, así como por las β -endorfinas. La exposición crónica a los estresores utilizados provoca incremento en el peso de las

glándulas suprarrenales y disminución en los pesos de las vesículas seminales, así como en el peso corporal de las ratas estresadas.

PROPÓSITO Y OBJETIVOS

Evaluar las modificaciones que provocan diferentes estresores, aplicados de manera aguda y crónica, en los parámetros de la conducta sexual masculina de la rata, tratando de determinar los mediadores de los efectos del estrés sobre dicha conducta. Analizar las modificaciones en los pesos de las glándulas suprarrenales, de las vesículas seminales, de los testículos y de los pesos corporales de las ratas estresadas.

Los objetivos del trabajo fueron los siguientes:

- ◆ Analizar y comparar los cambios que el estrés causa en cada uno de los parámetros de la conducta sexual masculina de la rata durante el tiempo de aplicación de los diferentes estresores.
- ◆ Analizar y comparar los cambios en los niveles circulantes de corticosterona y de testosterona por efecto de los diferentes estresores y su relación con los cambios en la conducta sexual de la rata.
- ◆ Analizar y comparar las modificaciones en los pesos de las glándulas suprarrenales, de las vesículas seminales, de los testículos y de los pesos corporales en las ratas control y en las ratas sometidas a los diferentes estresores.
- ◆ Evaluar los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas estresadas durante diferentes días y en ambas fases del ciclo de luz-obscuridad.

- ◆ Evaluar los efectos de la administración de corticosterona sobre el patrón conductual sexual en la rata macho y sobre los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona.
- ◆ Evaluar la posible participación de los opioides endógenos en la mediación de los efectos del estrés sobre los diferentes parámetros de la conducta sexual masculina.
- ◆ Analizar el efecto de los opioides endógenos sobre los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona en las ratas macho estresadas.

MATERIAL Y MÉTODO.

Animales experimentales

Se emplearon ratas macho adultas, de la cepa Wistar, sexualmente expertas, de 250-350g de peso corporal. Las ratas se mantuvieron en cajas de acrílico (50 x 20 x 30 cm), 5 ratas por caja, bajo condiciones de temperatura y humedad constantes. El cuarto de la colonia se mantuvo bajo un ciclo invertido de luz - oscuridad, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (la luz se apaga a las 9:00AM). El agua y el alimento estuvieron disponibles *ad libitum*.

Registro de Conducta Sexual Masculina.

Antes de exponerlos a los diferentes estresores, los machos fueron sometidos a tres pruebas de conducta sexual masculina, las cuales se efectuaron en el transcurso de 10 días, con un intervalo de cuatro días entre cada prueba, para seleccionar aquellos machos que presentaran al menos dos eyaculaciones en treinta minutos de prueba. De

esta manera, los machos seleccionados se consideraron sexualmente expertos y se asignaron aleatoriamente a los grupos experimentales.

Los registros se efectuaron bajo iluminación roja débil tres horas después del inicio de la fase oscura del ciclo de luz-obscuridad. La conducta sexual masculina se evaluó colocando al macho en un cilindro de plexiglas, de 45 cm de diámetro, con piso de aserrín, en el que se le permitió habituarse durante cinco minutos antes de introducir a una hembra sexualmente receptiva. Las hembras ovariectomizadas, fueron tratadas con benzoato de estradiol (10 µg/0.1 ml de aceite, sc); 44 horas después se les inyectó progesterona (2 mg/0.1 ml de aceite, sc) y 4 horas después se verificó que estuvieran receptivas para utilizarlas en los registros de conducta sexual. Después de la introducción de la hembra, los registros duraron treinta minutos. Se evaluaron los siguientes parámetros: latencias de monta, de intromisión y de eyaculación, número de montas y de intromisiones, frecuencia eyaculatoria/30 minutos e intervalo posteyaculatorio. También se obtuvieron los siguientes índices: tasa de aciertos e intervalo interintromisión promedio. Todos estos parámetros se analizaron en cada una de las series copulatorias.

Aplicación de los estresores.

Cuatro días después de seleccionar a los machos expertos, se asignaron de maera aleatoria a uno de los grupos experimentales, cada uno constituido por 10 sujetos. Durante veinte días consecutivos se aplicó uno de los siguientes estresores a cada grupo:

- **Estrés por inmovilización durante dos horas (IMOV-2).**

Las ratas se introdujeron en un cilindro de plexiglas de 5 cm de diámetro y 16 cm de largo con una malla fina de alambre en cada extremo, uno de los cuales tenía un orificio para la cola de la rata. Las ratas se mantuvieron en esta situación por dos horas diariamente al inicio de la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad. Otro grupo de machos se expuso al mismo estresor pero al inicio de la fase de luz del ciclo.

- **Estrés por inmovilización durante seis horas (IMOV-6).**

Las ratas se estresaron de la misma forma que el grupo anterior, pero durante 6 horas diariamente y al inicio de la fase oscura de ciclo. Otro grupo de machos se sometió al mismo estresor, al inicio de la fase de luz del ciclo de luz/oscuridad.

- **Estrés por inmersión en agua fría (IMS).**

Las ratas se introdujeron en un tanque que contenía una columna de agua de 15.5 cm, a una temperatura de 15°C, en donde podían nadar o permanecer en posición erguida, manteniendo la cabeza fuera del nivel del agua. Esta situación se prolongó por 15 minutos todos los días. Si la rata se hundía antes de finalizar los 15 minutos, se sacaba del agua y se registraba el tiempo. Este procedimiento también se realizó al inicio de la fase oscura del ciclo. Otro grupo de machos se sometió al mismo estresor al inicio de la fase de luz del ciclo de luz/oscuridad.

- **Estrés por choques eléctricos en las patas (CHEP).**

Los sujetos se colocaron en una cámara que tenía el piso electrificado. Se aplicaron choques eléctricos que las ratas no podían evitar, durante cinco minutos cada día. Los choques tenían una intensidad de 3 mA, una duración de 200 mseg y una frecuencia de 1/seg (1Hz). El estresor se aplicó al inicio de la fase oscura del ciclo.

Otro grupo de machos se expuso al mismo estresor pero al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/obscuridad.

- **Control**

Este grupo se mantuvo en sus cajas y fueron manipulados únicamente para evaluar sus pesos corporales cada día. Las ratas control y las estresadas se pesaron todos los días antes de someterlas a los diferentes estresores, tanto al inicio de la fase oscura como de la fase luminosa del ciclo de luz/obscuridad.

La conducta sexual de los machos estresados, se evaluó una hora después de finalizada la exposición a sus respectivos estresores, durante la fase oscura del ciclo de luz/obscuridad. Las pruebas de conducta sexual se realizaron los días 1, 4, 8, 12, 15 y 20 de estrés, tanto en los machos control como en los estresados.

Inmediatamente después de concluidas las pruebas de conducta sexual del último día de estrés (día 20), los machos fueron sacrificados rápidamente por decapitación (utilizando una guillotina y evitando el contacto visual y olfativo con los animales restantes, para que no se estresaran). La sangre del tronco se colectó en tubos heparinizados para la posterior cuantificación de los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona.

Cuantificación de corticosterona plasmática.

Antes de evaluar los niveles plasmáticos de corticosterona en los animales sometidos a diferentes condiciones de estrés, se realizó el seguimiento temporal de los niveles plasmáticos de esta hormona para observar sus variaciones circádicas en las ratas normales. Las mediciones se realizaron al inicio de la fase luminosa del ciclo de

luz/obscuridad y a las 12, 16, 20 y 24 hrs del mismo. Una vez determinados el mínimo y el máximo, éstos se continuaron evaluando durante tres días consecutivos.

Otros machos fueron asignados aleatoriamente a uno de los grupos de estrés o al control (cada grupo constituido por 10 sujetos). Las ratas fueron sometidas a uno de los diferentes estresores al inicio de la fase obscura del ciclo de luz/obscuridad durante 1, 4, 8, 12, 15 y 20 días consecutivos. Estos experimentos se realizaron también al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/obscuridad durante 1, 4, 12 y 20 días consecutivos. Al término de cada uno de los días especificados, las ratas fueron rápidamente sacrificadas por decapitación y la sangre del tronco se colectó en tubos heparinizados para evitar la coagulación de la sangre. Posteriormente, los tubos se centrifugaron a 3500 rpm para obtener el plasma para la evaluación de los niveles de corticosterona.

Después de obtener la sangre del tronco, se extrajeron las glándulas suprarrenales, las vesículas seminales y los testículos de todas las ratas, para limpiarlos y pesarlos posteriormente.

Métodos bioquímicos.

Extracción de corticosterona y testosterona del plasma.

La determinación de corticosterona en el plasma se llevó a cabo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), siguiendo el método reportado por Woodward y Emery (1987). Para la extracción de corticosterona y testosterona del plasma, a un ml de éste se le agregaron 100 μ l de una solución de 19-nortestosterona (5 μ l/ml de metanol), el cual se utilizó como estándar interno; se adicionaron 150 μ l de hidróxido de sodio 0.3 M. Los corticosteroides se extrajeron con una mezcla de éter

diétilico-diclorometano y los tubos se agitaron en vórtex. Se centrifugaron y el sobrenadante se transfirió a otro tubo donde se mezcló con 1 ml de agua grado HPLC. Después de centrifugar, el sobrenadante se transfirió a otro tubo y se evaporó con nitrógeno a temperatura ambiente. El residuo se redisolvió en 100 μ l de metanol-agua.

Condiciones cromatográficas. Se inyectaron 20 μ l de la muestra en un cromatógrafo de líquidos. Los esteroides se separaron en una columna cromatográfica Nova Pack C₁₈ de fase reversa. La fase móvil consistió en una mezcla de metanol-agua a un flujo de 1 ml/min. Las separaciones se hicieron a temperatura ambiente y los corticosteroides se monitorearon con detección de UV a 250 nm de longitud de onda.

Administración de corticosterona exógena.

En otros grupos de ratas macho (n=10, cada uno) se administraron, por vía sc, cuatro dosis diferentes de corticosterona, una dosis para cada grupo: 0.5, 1, 2 y 4 mg/0.2 ml durante 4 días consecutivos. A un grupo se le administraron 2 mg/0.2 ml de corticosterona durante 8 días consecutivos. A un último grupo se le administró el vehículo de inyección de la corticosterona (aceite). La conducta sexual masculina se evaluó cuatro horas después de la primera inyección (el primer día) y al cuarto día de administración de la hormona. En uno de los grupos también se evaluó la conducta sexual el día 8 de tratamiento con corticosterona. Inmediatamente después del último registro conductual, los animales se sacrificaron por decapitación para posteriormente evaluar los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona por HPLC.

Administración de naltrexona en ratas estresadas.

En este último experimento, los machos sexualmente expertos se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes grupos: control, al que se le administró solución salina por vía ip. A las ratas del segundo grupo se les administró solución salina 15 min antes de someterlas a estrés por CHEP. A los machos del tercer grupo se les administró naltrexona ip a una dosis de 1.5 mg/Kg de peso corporal 15 min antes de ser sometidos a los CHEP. A los machos del cuarto grupo se les inyectó solución salina ip 15 min antes de someterlos a estrés por IMS. A las ratas del quinto grupo se les administró naltrexona (1.5 mg/Kg) 15 min antes de exponerlos al estrés por IMS. Por último, a los animales del sexto grupo se les administró naltrexona a una dosis de 3 mg/Kg, antes de exponerlos al estrés por IMS. En todos los grupos, tanto el vehículo como el antagonista opiáceo se administraron solamente en los días 1, 4, 8, 12, 15 y 20 de estrés, en los que se evaluó la conducta sexual masculina. Los registros se efectuaron una hora después de la exposición de los machos a cada estresor. Durante los registros conductuales, en todas las ratas, experimentales y controles, se verificó la presencia del tapón seminal después de cada eyaculación en todos los registros. Al término de la evaluación conductual en el día 20, las ratas fueron sacrificadas por decapitación para la posterior evaluación de los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona.

Análisis estadístico de los datos.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en los registros de conducta sexual masculina se efectuó mediante el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis (ANOVA) para cada uno de los días de registro conductual. Cuando se

obtuvo significancia en la ANOVA, las diferencias con respecto al grupo control se evaluaron con la prueba de Dunn. También se utilizó el análisis de varianza no paramétrico para comparar, dentro de un mismo grupo, los cambios en los parámetros a través de los días de exposición al estresor. La ANOVA de Kruskal-Wallis, fue seguida de la prueba de Dunn (Zar, 1984). Las diferencias entre los grupos en conjunto se analizaron mediante un análisis de varianza multivariado (MANOVA), seguido, cuando fue significativo, de la prueba de Tukey para comparaciones múltiples.

Las modificaciones en los niveles plasmáticos de las hormonas, los pesos de las glándulas suprarrenales, de las vesículas seminales y de los testículos se evaluaron por medio de un análisis de varianza paramétrico (ANOVA). Cuando ésta fue significativa, las diferencias entre los grupos se analizaron con la prueba de Tukey, para comparaciones múltiples (Zar, 1984).

La ganancia de peso corporal a lo largo de los días de exposición a los diferentes estresores se evaluó mediante regresión simple para cada grupo y una ANOVA de la regresión. Posteriormente se evaluó el incremento de peso promedio por día en cada grupo y los incrementos se compararon mediante ANOVA, seguida de la prueba de Tukey (Zar, 1984).

En los casos en que se compararon sólo dos grupos, se aplicó la U de Mann-Whitney para los parámetros conductuales, y la t-Student para la comparación de los niveles de corticosterona y testosterona (Zar, 1984).

RESULTADOS

Efecto de los estresores sobre la conducta sexual masculina.

Los parámetros de la conducta sexual masculina se modificaron de manera dependiente del estresor al que se expusieron los machos. Las latencias de monta se incrementaron significativamente sólo en las ratas expuestas a la IMS (figura 7).

El análisis multivariado mostró que el incremento en las latencias de monta en este grupo fue significativamente mayor que en los demás grupos [$F(288, 4) = 28.55$, $p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$], presentándose latencias de hasta 300 segundos en promedio.

El análisis dentro de cada grupo indicó que no hubo diferencias entre los días en los grupos control, IMOV-2, IMOV-6 y CHEP, pero sí dentro del grupo de IMS. En este grupo la latencia de monta se incrementó significativamente los días 1, 4, 15 y 20, pero no los días 8 y 12 de estrés. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre las medias del día 1, 15 y 20 contra los días 8 y 12 de estrés [$H(5) = 22.3$, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$].

En el grupo de IMOV-6 la latencia de monta se incrementó significativamente sólo el primer día de estrés [$H(4) = 26.46$, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$], mientras que en el grupo de CHEP este parámetro aumentó sólo el día 20 [$H(4) = 32.8$, $p < 0.0001$; Dunn $p > 0.01$]. En el grupo de IMOV-2 no hubo incrementos en la latencia de monta en ninguno de los días de evaluación.

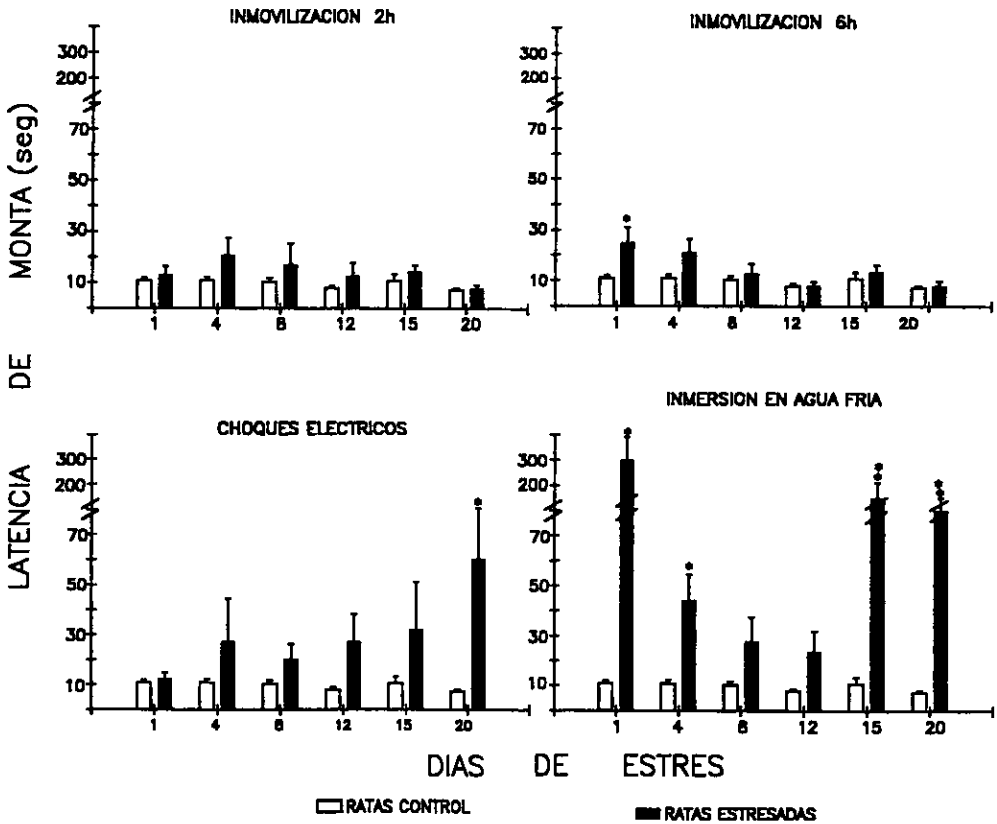


Figura 7. Efecto de los diferentes estresores aplicados aguda y crónicamente sobre las latencias de monta. Las mayores latencias se observaron en las ratas sometidas a la IMS. Los CHEP tuvieron efecto negativo solamente cuando se aplicaron crónicamente, en el día 20. IMS fue diferente de IMOV-2, IMOV-6, CHEP y del control. MANOVA seguida de la prueba de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

En las latencias de intromisión se observaron diferencias en los efectos causados sobre este parámetro por los diferentes estresores. Este parámetro se incrementó significativamente en los machos expuestos a los CHEP y a la IMS. Por el contrario, en las ratas sometidas a IMOV-6 no se observó ningún efecto sobre las latencias de intromisión en ninguno de los días de evaluación de la conducta sexual. En las ratas sometidas a IMOV2 solamente se observaron tendencias a incrementar sus latencias de intromisión en relación al grupo control (figura 8).

En el grupo de CHEP las latencias de intromisión se incrementaron, aunque no de manera consistente. Se observó un aumento significativo en este parámetro solamente los días 1, 15 y 20 de estrés, con respecto al control [$F(288,4) = 46.14, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.05$]. En estos dos últimos días, las latencias alcanzaron valores de 200 seg en promedio.

En el grupo de IMS se observaron los mayores incrementos en las latencias de intromisión durante todos los días en que se evaluó la conducta sexual. Los machos expuestos a este estresor presentaron latencias de intromisión mayores de 100 seg, en comparación con las observadas en el grupo control, en el cual el promedio fue de 15 seg. Las latencias de intromisión observadas en este grupo fueron significativamente mayores que las de los grupos control, CHEP, IMOV-2 e IMOV-6 [$F(288,4) = 46.14, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$].

No se observaron alteraciones motoras visibles en ninguna de las ratas expuestas a los diferentes estresores.

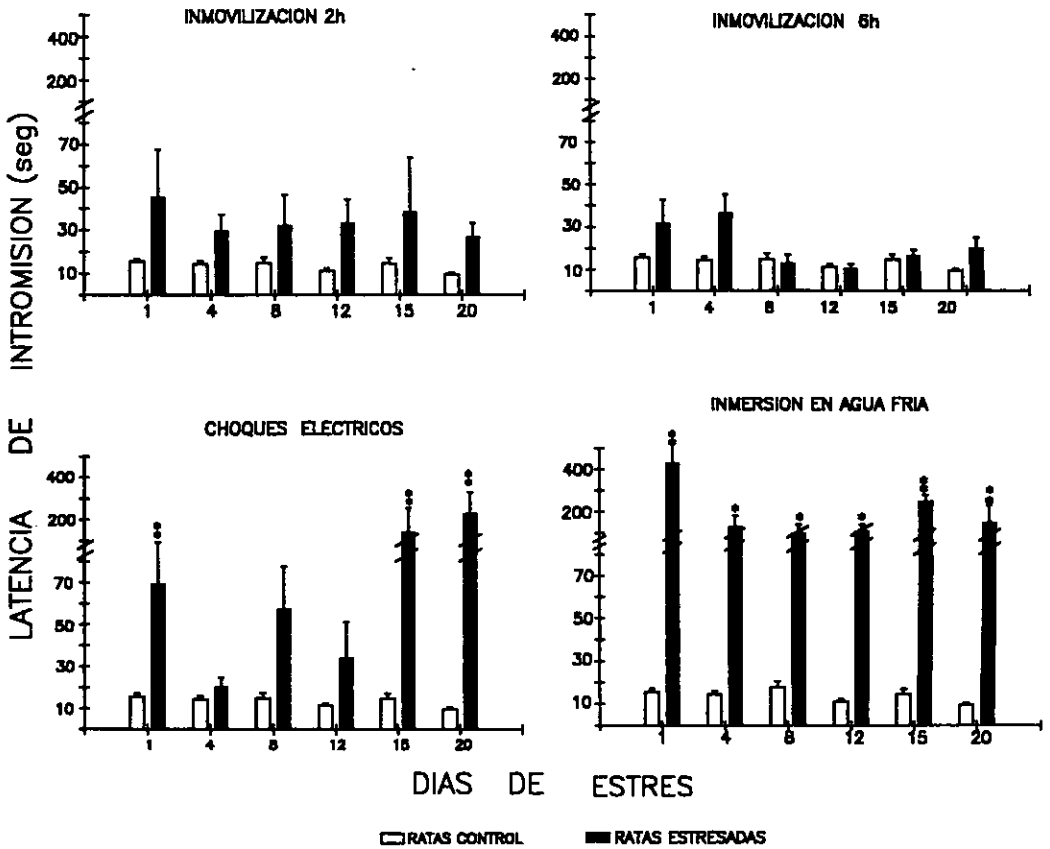


Figura 8. Efecto de los distintos estresores aplicados aguda y crónicamente sobre las latencias de intrusión. Las latencias más altas se presentaron en los grupos de IMS y de CHEP. La IMOV-2 y la IMOV-6 no afectaron este parámetro. El grupo de IMS fue diferente de IMOV-2, IMOV-6 y control. CHEP fue diferente del control e IMOV-6. MANOVA seguida de la prueba de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

En relación a las latencias de eyaculación, la comparación entre los grupos mostró que dichas latencias en los grupos de IMS y CHEP fueron significativamente mayores que las de los grupos Control, IMOV-2 e IMOV-6 [$F(284, 4) = 59.6, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. Durante la primera serie eyaculatoria, el grupo de IMS mostró incrementos significativos en todos los días de evaluación conductual (figura 9). Las latencias de eyaculación en este grupo también fueron mayores que las del grupo control en la segunda serie eyaculatoria, sin embargo el incremento fue estadísticamente significativo solamente el día 8 de estrés (datos no mostrados en la figura). En el grupo de CHEP también se incrementaron significativamente las latencias de eyaculación, las cuales fueron progresivamente mayores al incrementarse el número de exposiciones a este estresor (días 8, 12, 15 y 20 de estrés), comparados con el grupo control. El efecto del estrés por CHEP se presentó solamente en la primera serie copulatoria. El análisis de las variaciones a lo largo de los días, dentro del grupo de CHEP mostró que las latencias de eyaculación de los días 15 y 20 fueron significativamente mayores que las del día 1 [$H(5) = 26.08, p < 0.0001$; Dunn, $p < 0.05$].

En el grupo de IMOV-2 las latencias de eyaculación fueron mayores que las del control solamente el día 4 [$H(4) = 28.4, p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$]; en los días restantes no se observaron modificaciones en este parámetro.

En las ratas sometidas a IMOV-6 las latencias de eyaculación no se incrementaron en ninguno de los días, por el contrario, en el día 1 las latencias fueron significativamente menores que las del grupo control [$H(4) = 20.4, p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$].

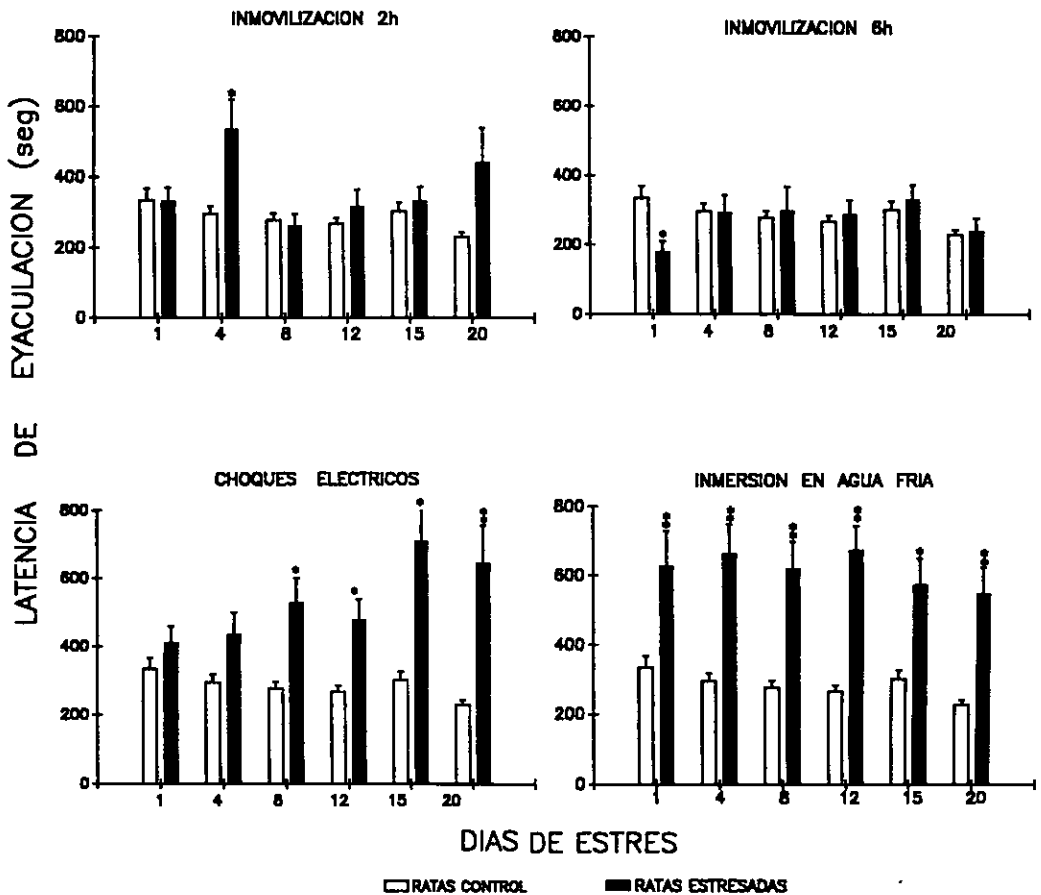


Figura 9. Efecto de los diferentes estresores sobre las latencias de eyaculación en la primera serie eyaculatoria. El efecto negativo de los CHEP aumentó con la exposición repetida. Las ratas expuestas a la IMS tuvieron las mayores latencias eyaculatorias en todos los días de registro conductual. Los grupos CONT, IMOV-2 e IMOV-6 fueron diferentes de los grupos de CHEP e IMS. MANOVA seguida de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis, seguida de Dunn. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Con respecto al número de montas, todos los estresores utilizados en este trabajo causaron incrementos significativos en este parámetro, tanto en la primera como en la segunda serie eyaculatoria. Los mayores efectos se observaron en los grupos de CHEP e IMS [F (284,4) = 36.61, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.01$], en los cuales el número de montas fue significativamente elevado, tres veces mayor que en el grupo control. En estos dos grupos el número de montas fue significativamente mayor que los valores controles durante todos los días en que se evaluó la conducta sexual masculina, no observándose diferencias entre los días dentro de estos grupos.

En el grupo sometido a IMOV-2, el número de montas se incrementó en promedio dos veces respecto al grupo testigo, aunque solamente los días uno [H(4) = 23.03, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$], cuatro [H(4) = 18.2, $p < 0.001$; Dunn $p < 0.05$] y veinte de estrés [H(4) = 37.9, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.01$]. El estrés por IMOV-6 mostró ligeros incrementos en este parámetro, pero solamente fue significativo el primer día [H(4) = 23.03, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$] de exposición a este estresor, estos datos se muestran en la figura 10.

En la segunda serie eyaculatoria el número de montas en los grupos de CHEP, IMS e IMOV-2 también fueron significativamente mayores que en el grupo testigo; dichos efectos fueron de magnitud similar a los de la primera serie, ya que el número de montas se elevó de dos a tres veces respecto al control (datos no mostrados en la figura).

El número de intromisiones que preceden a la eyaculación no se modificó significativamente en ninguno de los grupos de ratas estresadas comparados con el control, razón por la que no se muestran dichos datos.

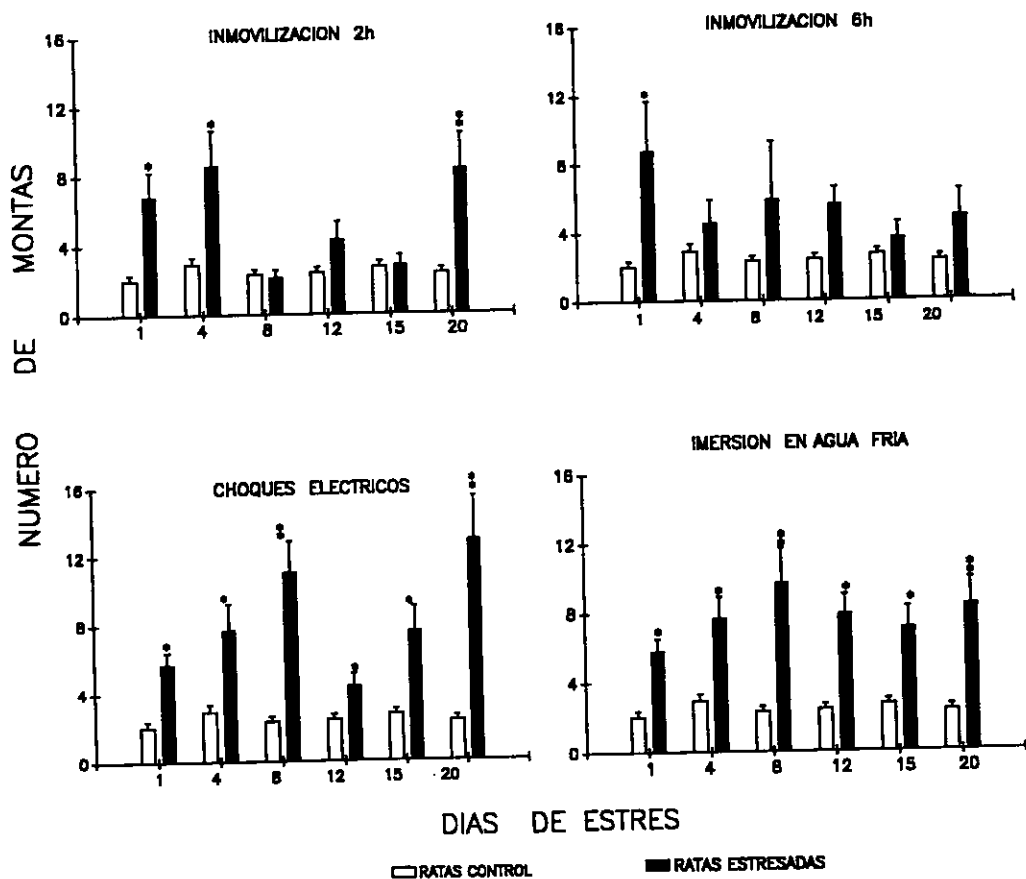


Figura 10. Efecto de los diferentes estresores sobre el número de montas. Todos los estresores causaron incrementos en este parámetro, pero los valores más altos se presentaron en los grupos de IMS y CHEP. El grupo control fue diferente de los experimentales; CHEP e IMS fueron diferentes del control, IMOV-2, e IMOV-6. No hubo diferencias entre los días dentro de cada estresor. MANOVA seguida de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de Dunn. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Como consecuencia del incremento en el número de montas, la tasa de aciertos o hit rate decreció de manera significativa en todos los grupos de ratas estresadas, sin embargo, las menores tasas de aciertos se presentaron en los machos sometidos a IMS y CHEP, en los cuales este parámetro disminuyó en todos los días de evaluación conductual. El grupo control fue estadísticamente diferente de IMOV-2, CHEP e IMS y a su vez, los grupos de CHEP e IMS fueron significativamente diferentes de los grupos Control, IMOV-2 e IMOV-6 [F (284,4) = 36.61, $p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. En la figura 11 se muestran las tasas de aciertos de la primera serie eyaculatoria presentadas por los machos sometidos a los diferentes estresores. En los machos sometidos a IMOV-2, a CHEP o a IMS, las tasas de aciertos fueron significativamente menores que las de los machos testigo, tanto en la primera como en la segunda serie eyaculatoria. De manera similar a lo observado en el número de montas, los efectos de los tres grupos mencionados fueron significativamente diferentes del grupo control. Sin embargo, la tasa de aciertos observada en los machos de los grupos de CHEP e IMS fueron significativamente menores que las de los machos del grupo de IMOV-2, ya que en este último las tasas de aciertos se redujeron solamente en los días uno [H(4) = 19.6, $p < 0.0001$; Dunn $p > 0.05$], cuatro [H(4) = 18.26, $p < 0.001$; Dunn $p < 0.05$] y veinte de estrés [H (4) = 32.23, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$], mientras que en los grupos de CHEP e IMS la tasa de aciertos fue menor que la del grupo control durante todos los días de evaluación, tanto en la primera como en la segunda serie eyaculatoria. No se encontraron diferencias estadísticas en los efectos producidos por estos dos estresores entre los días de exposición al estrés. En el grupo de IMOV-6, la tasa de aciertos disminuyó sólo el primer día de exposición [H(4) = 19.6, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$].

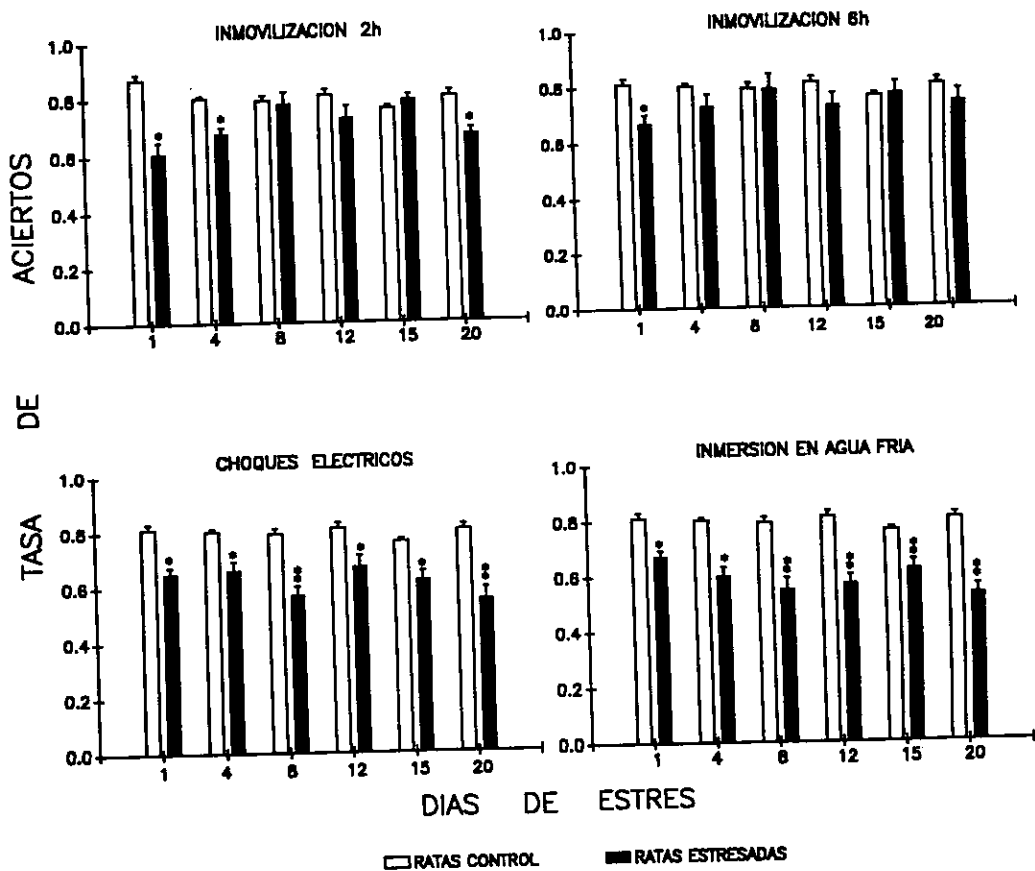


Figura 11. Modificaciones en la tasa de aciertos en respuesta a los diferentes estresores. Este parámetro disminuyó de forma dependiente del tipo de estresor. Sólo en los grupos de IMS y CHEP la tasa de aciertos disminuyó significativamente con respecto al control en todos los días de evaluación conductual. El grupo de IMOV-6 provocó disminución en este parámetro sólo el día 1. Los grupos CHEP e IMS fueron diferentes del Control, IMOV-2 e IMOV-6. MANOVA seguida de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de Dunn. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

El intervalo interintromisión promedio aumentó significativamente por efecto del estrés por CHEP e IMS con respecto al grupo control, tanto en la primera como en la segunda serie eyaculatoria. Los intervalos interintromisión en estos dos grupos fueron estadísticamente diferentes de los grupos control, IMOV-2 e IMOV-6 [$H(284, 4) = 49.1$, $p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$].

Los machos expuestos a la IMS tuvieron intervalos interintromisión significativamente mayores que los machos sometidos al estrés por CHEP [$H(284, 4) = 49.1$, $p < 0.0001$; Tukey $p < 0.05$]. En el grupo de IMS el intervalo interintromisión se incrementó significativamente desde el primer día de estrés y se mantuvo elevado en todos los días de evaluación conductual; en contraste, los efectos del estrés por CHEP fueron progresivamente mayores con la exposición repetida a este estresor. Las ratas sometidas a este estresor presentaron incrementos en los intervalos interintromisión a partir del día 12 de exposición a los CHEP [$H(4) = 49.8$, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.01$] y se mantuvieron elevados hasta el día 20 de estrés [$H(4) = 28.5$, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$], estos datos se muestran en la figura 12.

A diferencia de lo observado en los grupos de IMS y CHEP, en el grupo de IMOV-2 no se observaron modificaciones en este parámetro en ninguno de los días de evaluación conductual. En el grupo de IMOV-6 el intervalo interintromisión promedio no se incrementó, por el contrario, disminuyó significativamente con respecto al control, pero sólo el primer día de exposición a este estresor [$H(4) = 24.07$, $p < 0.0001$; Dunn $p < 0.05$].

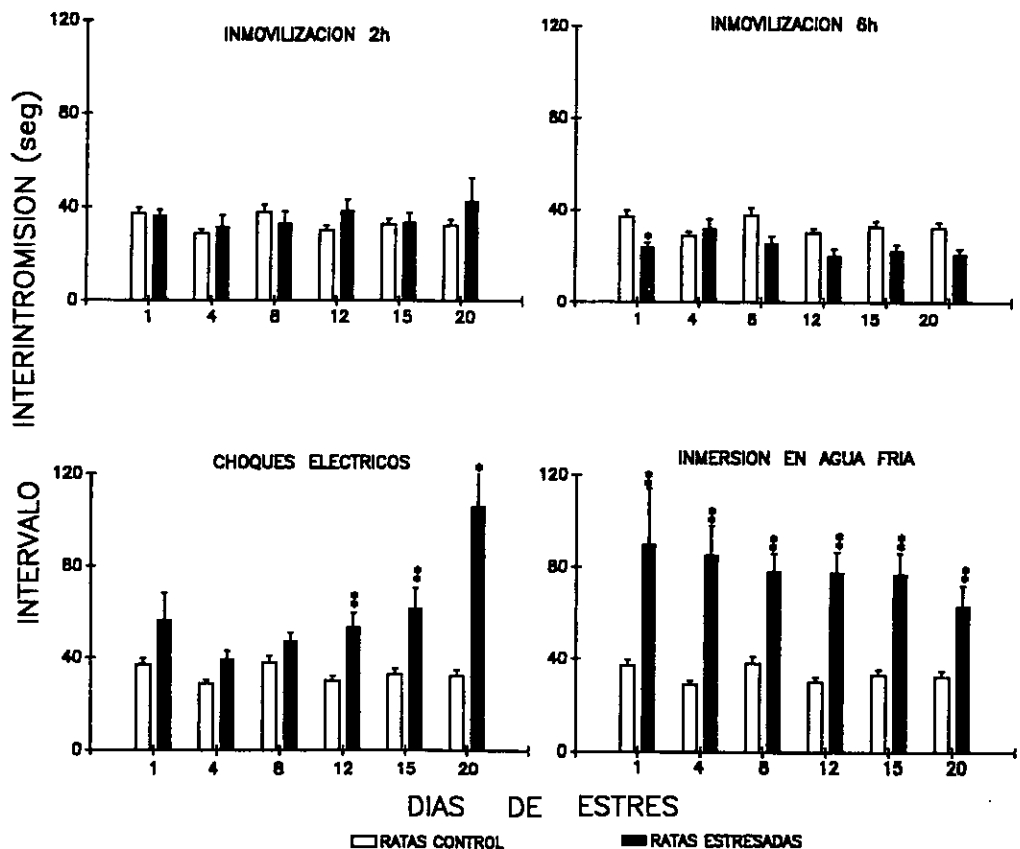


Figura 12. Modificaciones en el intervalo interintromisión en respuesta a los diferentes estresores. En el grupo de IMOV-2 no se observaron modificaciones. La IMOV-6 causó disminución en este parámetro solamente el primer día de estrés. Por el contrario, el estrés por CHEP o IMS causó incrementos en los valores de este parámetro. CHEP e IMS difieren de IMOV-2, IMOV-6 y del control. MANOVA seguida de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de Dunn. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

En lo referente a la frecuencia de eyaculación, el análisis multivariado entre los grupos mostró que los efectos del estrés por CHEP o por IMS fueron significativamente mayores que los efectos causados por IMOV-2 e IMOV-6 [$F(284, 4) = 81.7, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. Las frecuencias eyaculatorias en los grupos IMOV-2, CHEP e IMS fueron menores que las de los grupos Control e IMOV-6. En el grupo de IMOV-2 la frecuencia eyaculatoria fue menor que la del grupo control sólo el día 20 de estrés, mientras que en los grupos de CHEP e IMS dichas frecuencias fueron menores que las del grupo control en todos los días de la evaluación conductual (figura 13).

El estrés por IMOV-6 no causó disminución en la frecuencia eyaculatoria, por el contrario, se observó un incremento significativo, aunque solamente el primer día de exposición a este estresor. El análisis estadístico dentro de los grupos no mostró diferencias significativas entre los días de estrés en ningún grupo.

Aunque en los grupos de CHEP e IMS se presentaron bajas frecuencias eyaculatorias, el mayor efecto negativo sobre este parámetro se presentó en el grupo de IMS, en el cual dichas frecuencias fueron significativamente menores que en el grupo de CHEP [$F(284,4) = 81.7, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. Desde el primer día de estrés, el grupo de IMS mostró un decremento significativo en las frecuencias eyaculatorias, mismas que permanecieron bajas durante todos los días de registro de conducta sexual masculina. En este grupo, el 40 % de los machos no eyaculó los días 1, 4, 15 y 20 de estrés, y el 10 % en los días 8 y 12. Los machos de este grupo que tuvieron actividad sexual eyacularon solamente una vez o no eyacularon, mientras que en los otros grupos el 100% de los machos eyaculó en todos los días de registro conductual.

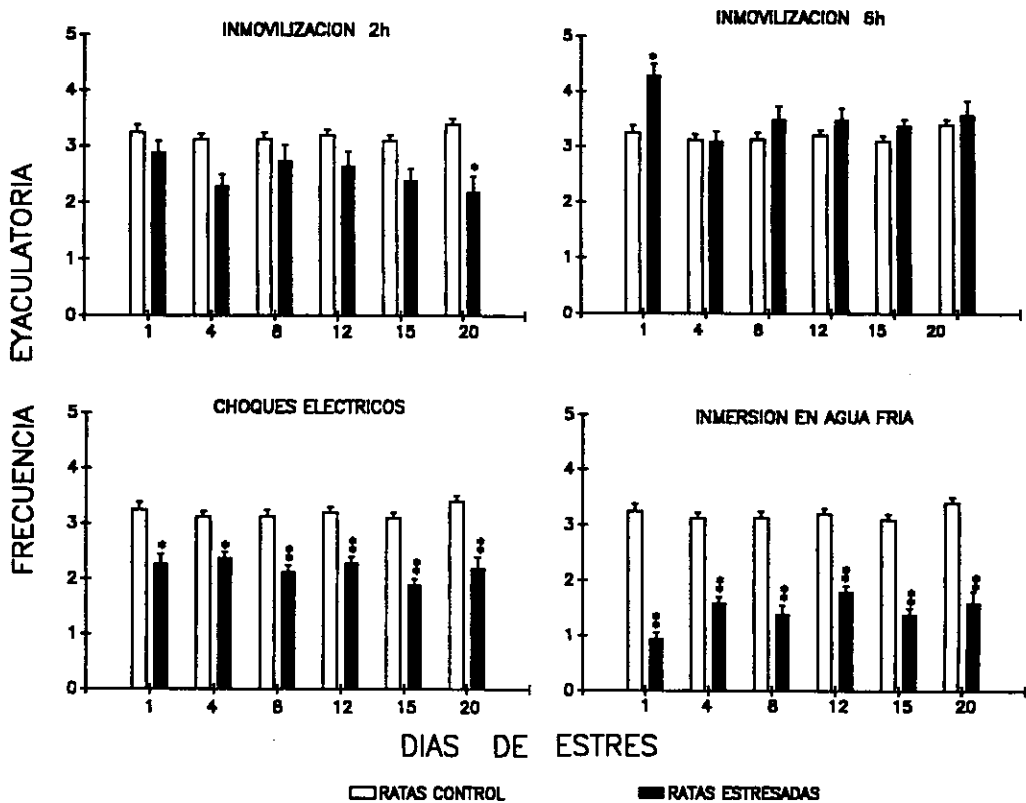


Figura 13. Efecto del estrés agudo y crónico sobre la frecuencia de eyaculación. El grupo de IMS presentó la menor frecuencia eyaculatoria. El grupo de CHEP también mostró disminución en este parámetro, aunque en menor grado que el anterior. El estrés por IMOV-2 afectó este parámetro sólo el día 20. En el grupo de IMOV-6 este parámetro se incrementó significativamente el día 1 de estrés. CHEP e IMS fueron diferentes de IMOV-2, IMOV-6 y del control; IMS fue diferente de CHEP. MANOVA seguida de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de Dunn. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Finalmente, en relación al intervalo posteyaculatorio, de todos los estresores utilizados en este trabajo, solamente el estrés por IMS tuvo efecto sobre este parámetro conductual [F(278, 4) = 55.9, $p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. En las ratas sometidas a estrés por IMS, los intervalos posteyaculatorios se incrementaron de manera significativa, con respecto al grupo control, en todos los días de la evaluación conductual, estos datos se presentan en la figura 14.

Efecto de los estresores sobre los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona.

Los niveles plasmáticos corticosterona (figura 15A) y de testosterona (figura 15B) se incrementaron por efecto de la actividad sexual en los machos del grupo testigo al compararlos con los machos adultos que no fueron sometidos a ninguna prueba de conducta sexual masculina. Estos machos presentaron niveles plasmáticos de corticosterona significativamente menores (25.2 $\mu\text{g/dl}$ en promedio) que los de los machos control, no estresados y sexualmente expertos (37.7 $\mu\text{g/dl}$). Los datos mostrados en la figura 15 corresponden a los niveles hormonales de los machos sacrificados el día 20 de estrés, inmediatamente después de la última prueba de conducta sexual [F(60, 5) = 27.96, $p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$].

En el caso de la testosterona, se observó el mismo efecto; esto es que la actividad sexual *per se*, incrementó los niveles plasmáticos de testosterona de 2 ng/ml en los machos inexpertos hasta 5.2 ng/ml en los machos expertos [F(60,5) = 68.18, $p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$].

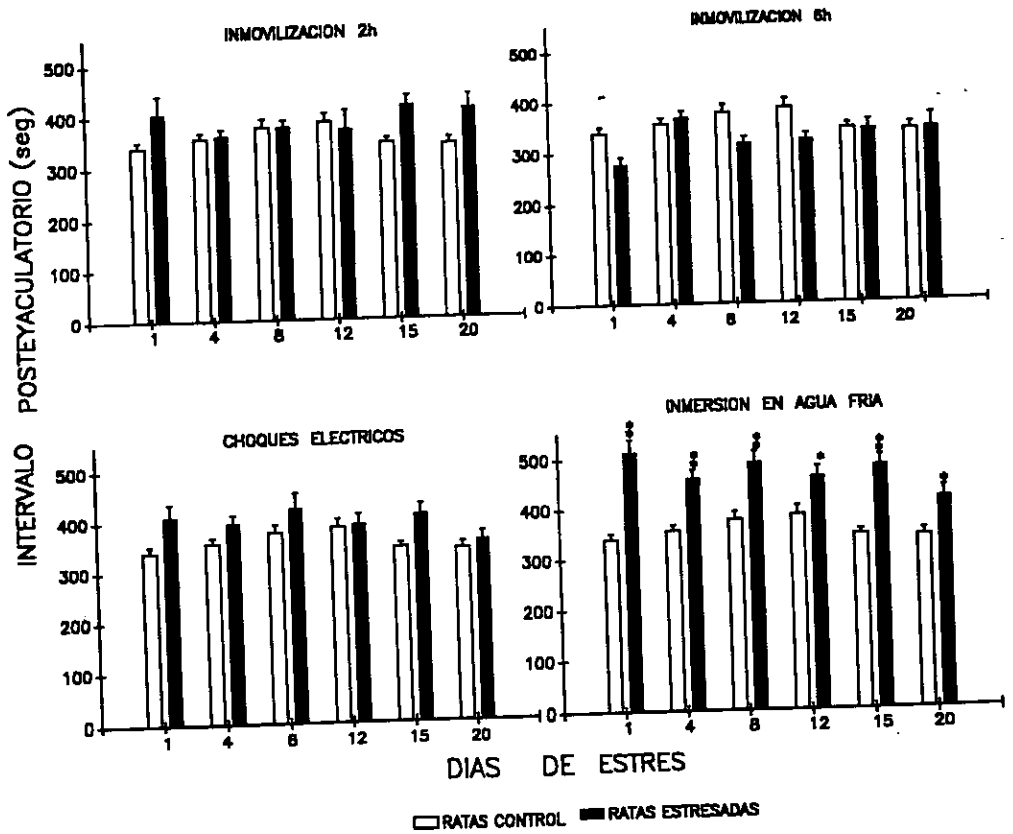


Figura 14. Intervalo posteyaculatorio en machos sometidos a diferentes estresores. Sólo los machos expuestos a IMS presentaron incrementos significativos en este parámetro. El grupo de IMS fue diferente de los demás grupos. MANOVA seguida de Tukey. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de Dunn. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Además de las diferencias en los efectos causados sobre los parámetros de la conducta sexual masculina, los estresores utilizados también afectaron de diferente manera los niveles circulantes de testosterona y corticosterona.

En el caso de la corticosterona, se observó que las ratas expuestas a IMS mostraron niveles plasmáticos de esta hormona significativamente mayores que los otros grupos (figura 15 A). En los machos sometidos a IMOV-2, IMOV-6 o a CHEP no hubieron cambios en los niveles plasmáticos de esta hormona en comparación con los niveles de los machos testigo, sexualmente expertos [$F(60, 5) = 27.97, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$].

La testosterona plasmática disminuyó significativamente en los machos sometidos a IMOV-6, CHEP e IMS en comparación con los machos del grupo control, sexualmente expertos, no estresados [$F(60, 5) = 68.18, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. La magnitud del efecto del estrés sobre este parámetro fue diferente de acuerdo al estresor utilizado. Los niveles de testosterona en los sujetos sometidos a IMOV-2 e IMOV-6 disminuyeron pero el decremento sólo fue significativo en los machos expuestos a IMOV-6. En los machos expuestos a CHEP e IMS se observó el mayor efecto supresor sobre la testosterona plasmática. En estos dos grupos, los niveles de testosterona fueron de 0.5 ng/ml en el grupo de CHEP y de 0.19 ng/ml en el grupo de IMS (figura 15B). Estos valores fueron menores que los observados en el grupo de machos sexualmente inexpertos [$F(60,5) = 68.18, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$].

Como puede apreciarse, en el grupo de IMS se presentaron los mayores efectos en estas dos hormonas, esto es, los niveles de corticosterona plasmática fueron los mayores y los niveles de testosterona fueron los menores en comparación con los grupos restantes.

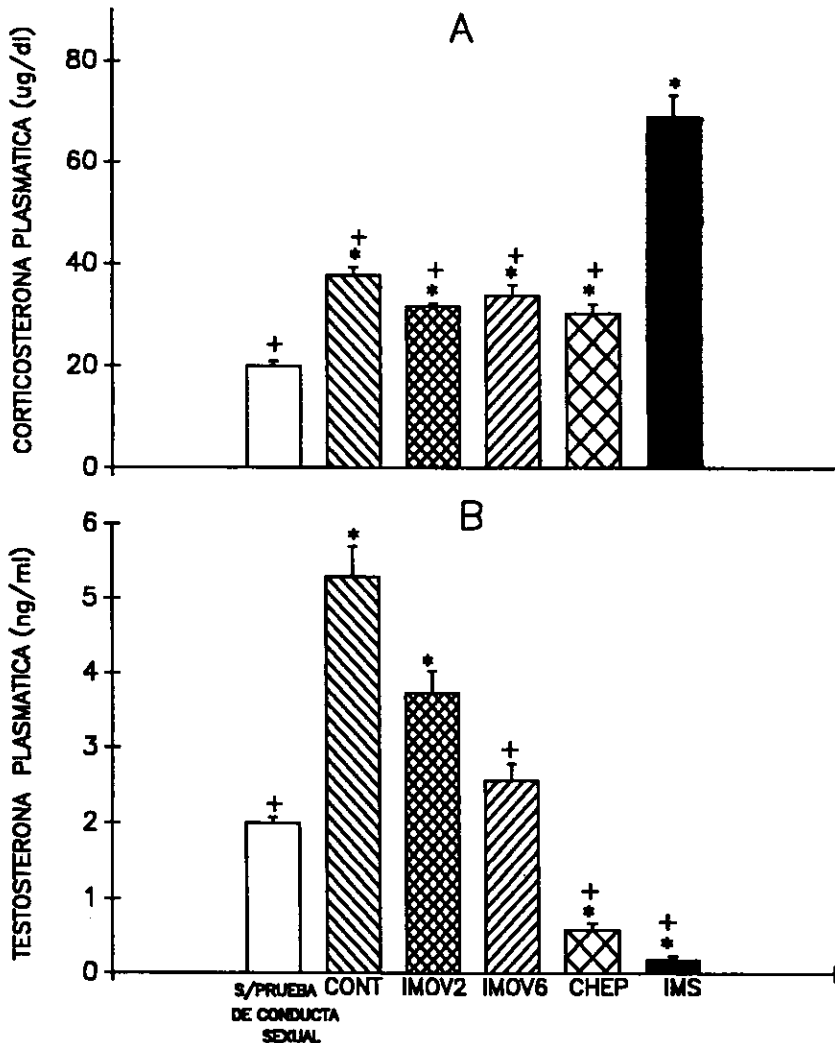


figura 15. Efecto de diferentes estresores sobre los niveles plasmáticos de corticosterona (A) y testosterona (B). La actividad copulatoria incrementó los niveles plasmáticos de ambas hormonas. La corticosterona plasmática se incrementó significativamente sólo en las ratas expuestas a la IMS. La testosterona plasmática disminuyó en los grupos de IMS, CHP e IMOV-6, pero los niveles más bajos se presentaron en las ratas sometidas a la IMS y a los CHP. ANOVA seguida de Tukey. * $p < 0.05$ comparado con el grupo control sin experiencia sexual; + $p < 0.01$ comparado con el grupo control con experiencia sexual.

**Efecto de los estresores en los pesos de las glándulas suprarrenales,
de las vesículas seminales y de los testículos.**

El análisis estadístico de los pesos de las glándulas suprarrenales de las ratas control y de las ratas estresadas al inicio de la fase oscura y durante veinte días consecutivos mostró que los pesos de las glándulas suprarrenales de los machos sometidos a CHEP e IMS fueron significativamente mayores que los de las ratas de los grupos restantes (control, IMOV-2, IMOV-6). Dichos efectos se presentaron con la exposición repetida a estos estresores durante veinte días consecutivos, pero no antes [F(47, 4) = 4.06, $p < 0.003$; Tukey $p < 0.05$]. El incremento en los pesos de estas glándulas se presentó también en las ratas sometidas a CHEP e IMS al inicio de la fase luminosa (figura 16) del ciclo de luz/obscuridad y sólo el día veinte de exposición a los estresores mencionados [F(50, 4) = 7.24, $p < 0.001$; Tukey $p < 0.05$].

En relación a las vesículas seminales, el análisis estadístico mostró que solamente en las ratas expuestas a estrés por IMS los pesos de estos órganos fueron significativamente menores que los de los grupos control e IMOV-2 [F(50, 4) = 4.87, $p < 0.0027$; Tukey $p < 0.05$]. Esta disminución en el peso de las glándulas seminales ocurrió solamente con veinte días de exposición a dicho estresor (figura 17).

El análisis de los pesos de los testículos de los animales estresados no mostró disminución en el peso testicular cuando se consideraron los pesos testiculares netos ni cuando se evaluaron en relación al peso corporal (Tabla I).

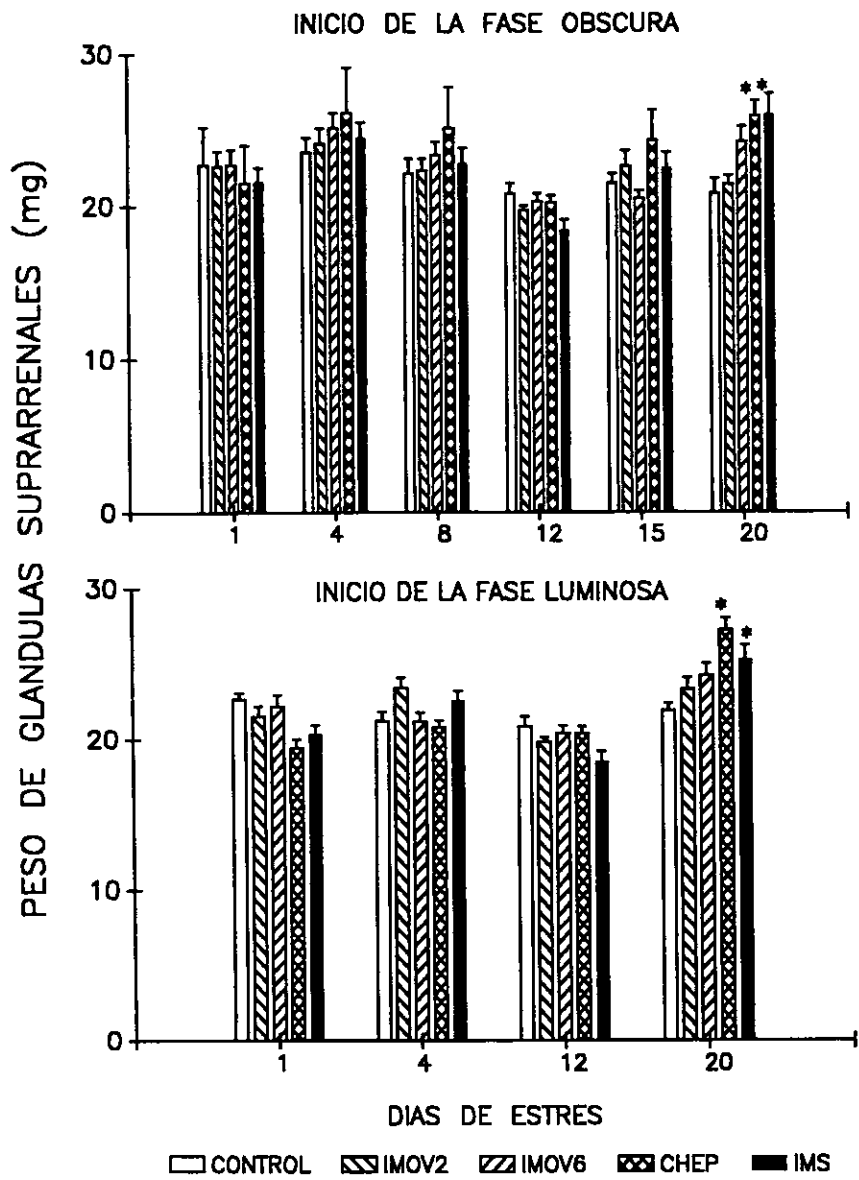


Figura 16. Pesos de las glándulas suprarrenales de ratas control y de ratas estresadas. El peso de estas glándulas se incrementó significativamente en las ratas expuestas a CHEP y a IMS durante veinte días consecutivos. ANOVA seguida de Tukey. * $p < 0.05$

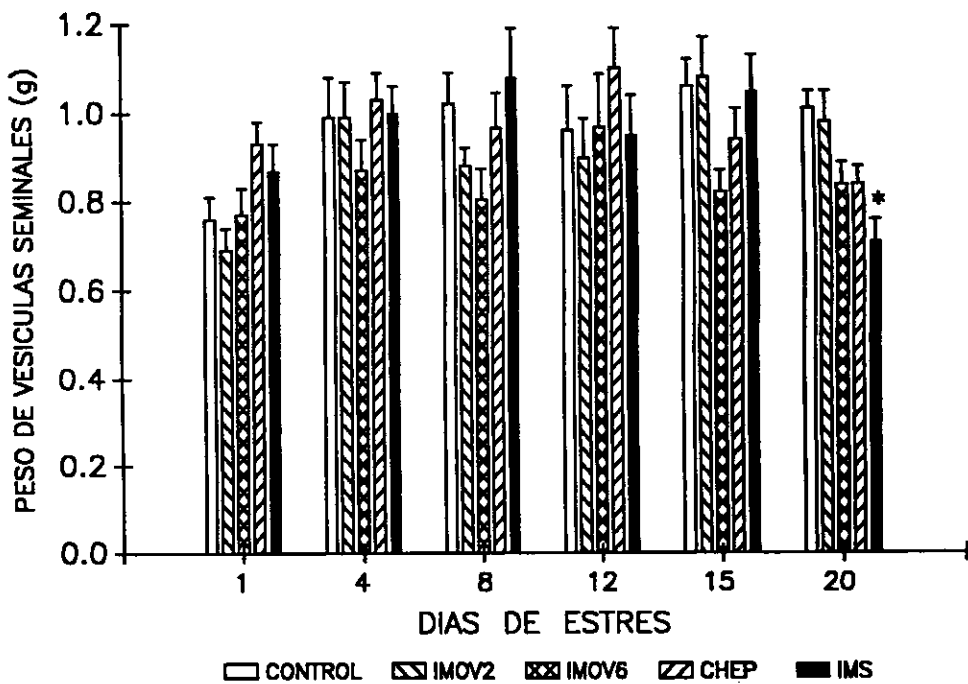


Figura 17. Pesos de las vesículas seminales de ratas control y de ratas estresadas. Solamente las ratas sometidas a estrés por IMS presentaron disminución significativa en los pesos de estas vesículas a los veinte días de exposición al estresor. Media \pm E.S. ANOVA seguida de Tukey. * $p < 0.05$

Tabla I. Pesos testiculares de ratas control y ratas estresadas al inicio de la fase oscura y de la fase luminosa del ciclo de luz/oscuridad.

FASE OSCURA DEL CICLO						
PESOS TESTICULARES (g)						
DIAS DE ESTRES						
GRUPO	1	4	8	12	15	20
CONTROL	1.48 ± .02	1.55 ± .03	1.53 ± .01	1.52 ± .02	1.5 ± .02	1.49 ± .03
IMOV2	1.25 ± .07	1.66 ± .03	1.47 ± .03	1.44 ± .02	1.47 ± .03	1.53 ± .02
IMOV6	1.42 ± .03	1.57 ± .04	1.53 ± .03	1.39 ± .02	1.51 ± .02	1.46 ± .04
CHEP	1.46 ± .05	1.68 ± .05	1.44 ± .03	1.44 ± .02	1.41 ± .02	1.52 ± .03
IMS	1.33 ± .03	1.6 ± .03	1.43 ± .02	1.52 ± .03	1.46 ± .05	1.45 ± .03

FASE LUMINOSA DEL CICLO				
PESOS TESTICULARES (g)				
DIAS DE ESTRES				
GRUPO	1	4	12	20
CONTROL	1.55 ± .03	1.47 ± .03	1.52 ± .03	1.63 ± .02
IMOV2	1.55 ± .03	1.43 ± .03	1.44 ± .02	1.54 ± .01
IMOV6	1.51 ± .02	1.51 ± .02	1.39 ± .01	1.58 ± .01
CHEP	1.52 ± .03	1.50 ± .03	1.44 ± .02	1.58 ± .03
IMS	1.57 ± .03	1.56 ± .03	1.51 ± .03	1.63 ± .02

No hubieron modificaciones significativas en los pesos de los testículos de las ratas estresadas con respecto a las del grupo control.

Efecto de los estresores sobre la ganancia de peso corporal.

En las ratas sometidas a los diferentes estresores no se observó pérdida de peso corporal sino menor ganancia de peso en comparación con las ratas control. En la figura 18 se muestran las curvas de ganancia de peso corporal tanto en las ratas control como en las ratas estresadas al inicio de la fase oscura del ciclo de luz/obscuridad. En cada curva se muestra la ecuación respectiva, obtenida mediante regresión lineal, lo mismo que la ordenada al origen y el coeficiente de correlación.

La comparación estadística entre las pendientes de las curvas de ganancia de peso en cada grupo mostró que en los grupos de ratas estresadas dichas pendientes fueron significativamente menores que la del grupo control [$F(90, 4) = 39.8, p < 0.0001$].

En el caso de las ratas estresadas al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/obscuridad se obtuvieron resultados similares, esto es, las pendientes de las curvas de ganancia de peso corporal fueron significativamente menores que las pendientes de las curvas de peso de las ratas control [$F(90, 4) = 31.19, p < 0.0001$]. En las ratas sometidas a IMS se observó la menor pendiente en la ganancia de peso corporal (0.66), estos datos se muestran en la figura 19.

El análisis de los pesos corporales como tasas de crecimiento o ganancia de peso por día, mostró que las ratas sometidas a todos los estresores (IMOV-2, IMOV-6, CHEP e IMS) tuvieron ganancias de peso significativamente menores en relación al grupo control cuando el estrés fue aplicado en ambas fases del ciclo de luz-obscuridad [$F(90,4) = 8.19, p < 0.001$; Tukey $p < 0.05$] (Tabla II).

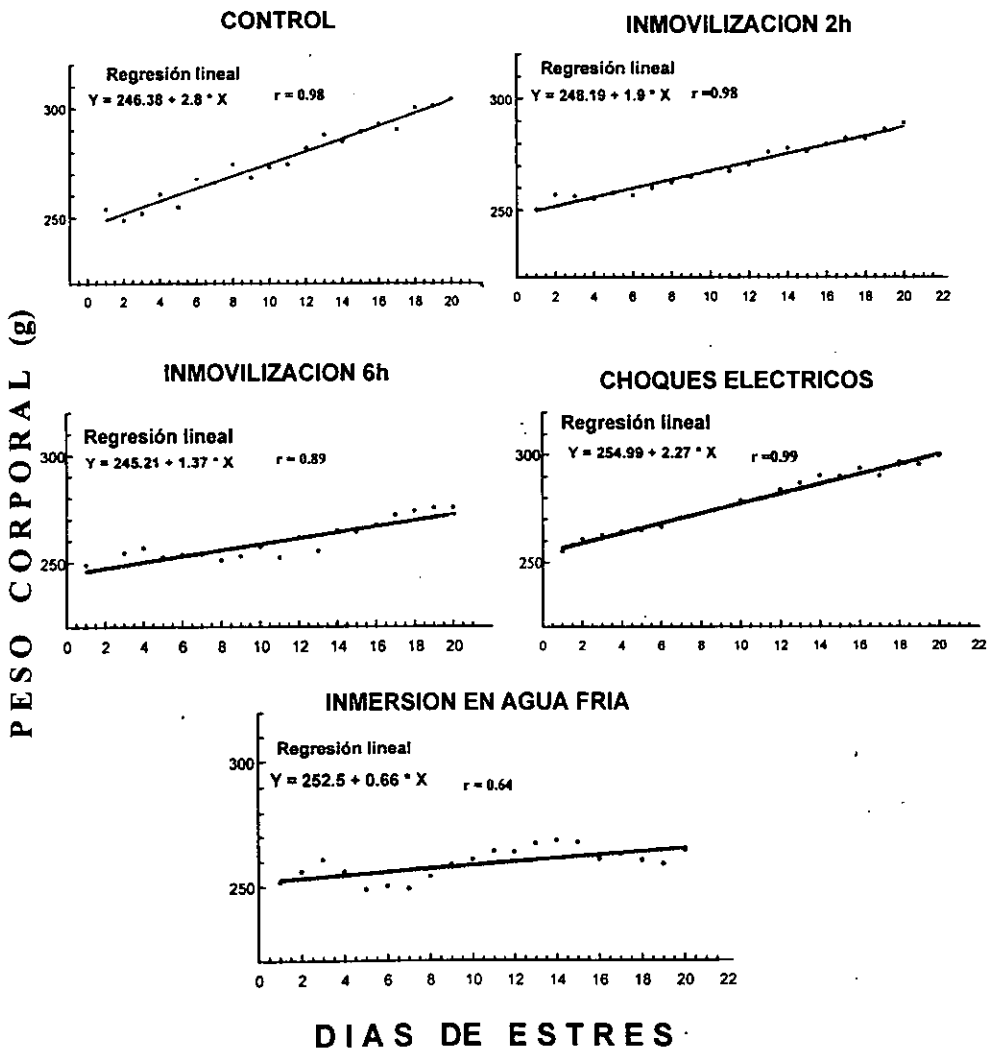


Figura 18. Curvas de los pesos corporales de las ratas control y ratas sometidas a estrés al inicio de la fase oscura del ciclo. Las pendientes de las curvas de los grupo de estrés fueron significativamente diferentes de la del grupo control ($p < 0.0001$)

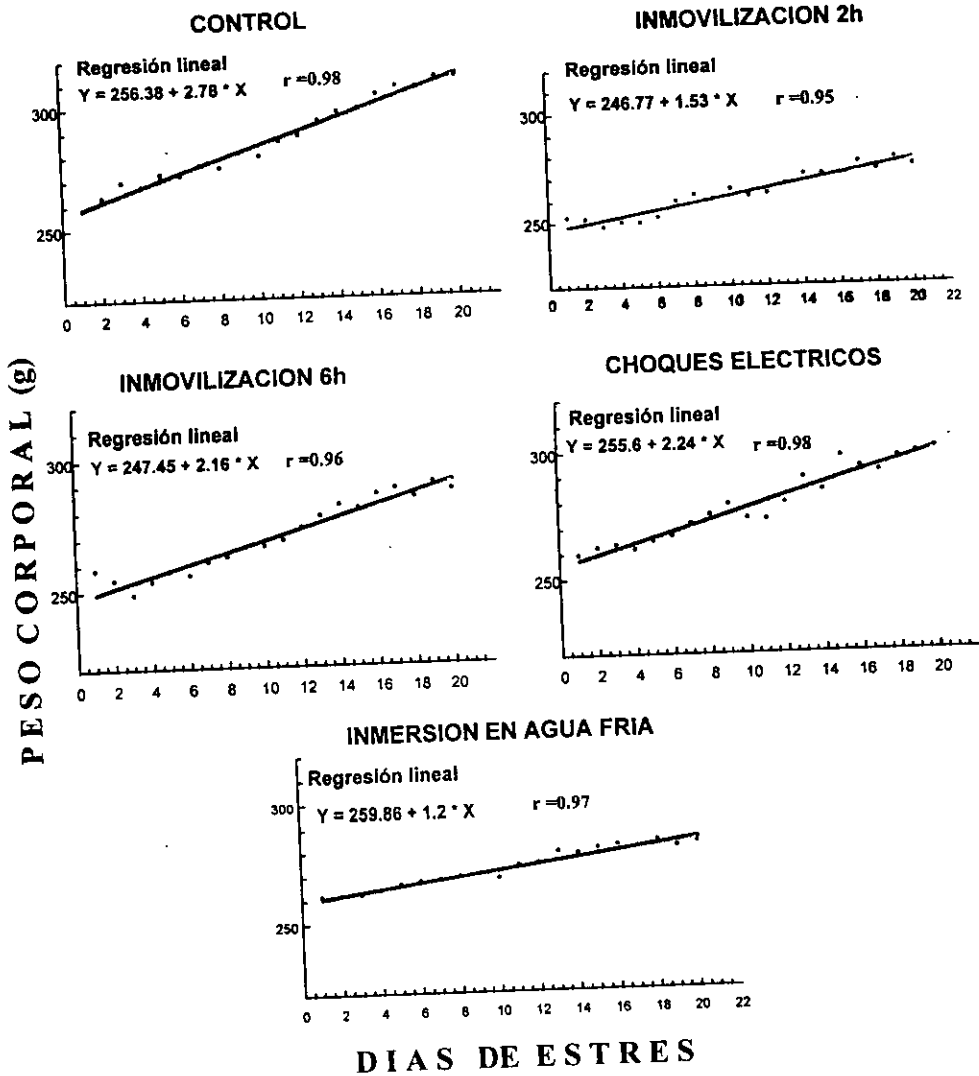


Figura 19. Curvas de los pesos corporales de ratas control y de ratas sometidas a estrés al inicio de la fase luminosa del ciclo. Las pendientes de las curvas en los grupos de estrés fueron significativamente menores que la del grupo control ($p < 0.0001$)

Tabla II. Incremento promedio del peso corporal en las ratas sometidas a los diferentes estresores durante 20 días consecutivos en las dos etapas del ciclo de luz/obscuridad.

INCREMENTO PROMEDIO DE PESO (g/día)					
DURANTE 20 DIAS CONSECUTIVOS					
FASE CICLO	CONTROL	IMOV-2	IMOV-6	CHEP	IMS
OBSCURA	2.5 ± 0.22	*1.59 ± 0.12	*1.11 ± 0.35	*1.09 ± 0.22	*0.41 ± 0.24
LUMINOSA	2.28 ± 0.35	*1.37 ± 0.12	*1.37 ± 0.16	1.79 ± 0.23	*1.52 ± 0.23

Media ± error estándar. ANOVA seguida de Tukey *p<0.05 con respecto al control.

Variaciones circádicas en los niveles plasmáticos de corticosterona.

En la figura 20 se muestran las variaciones circádicas observadas en los niveles plasmáticos de corticosterona en machos intactos. La concentración de esta hormona en el plasma alcanzó un máximo ($31.74 \pm 3.19 \mu\text{g/dl}$ en promedio) al inicio de la fase obscura del ciclo de luz/obscuridad. La concentración de la hormona fue decayendo progresivamente conforme transcurrió la fase obscura para llegar a su mínimo ($6.6 \pm 1.86 \mu\text{g/dl}$, en promedio) al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/obscuridad del vivarium. Estas variaciones circádicas se confirmaron durante tres días más en otros machos adultos e intactos.

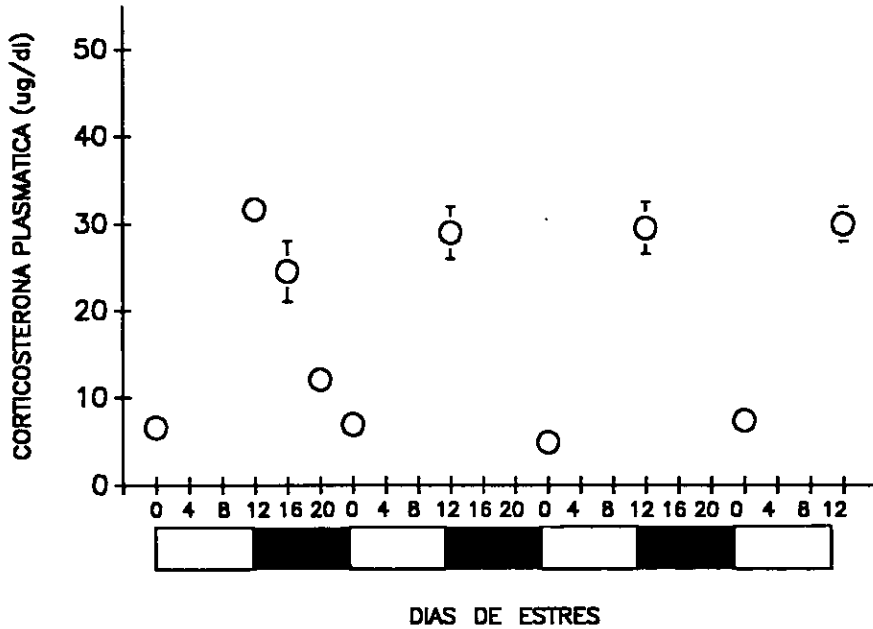


Figura 20. Variaciones circádicas en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas macho intactas. Los niveles plasmáticos de la hormona alcanzaron el máximo al inicio de la fase oscura y el mínimo al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/oscurecimiento.

Efecto de los estresores sobre los niveles plasmáticos de corticosterona

En las figuras 21 y 22 se muestran los efectos de los estresores utilizados en este trabajo sobre los niveles plasmáticos de corticosterona. En la primera exposición al estrés (agudo), ninguno de los estresores utilizados modificó los niveles de corticosterona en el plasma. Los efectos diferenciales de los estresores fueron evidentes a partir del día 4 de estrés (considerado en este trabajo como estrés crónico).

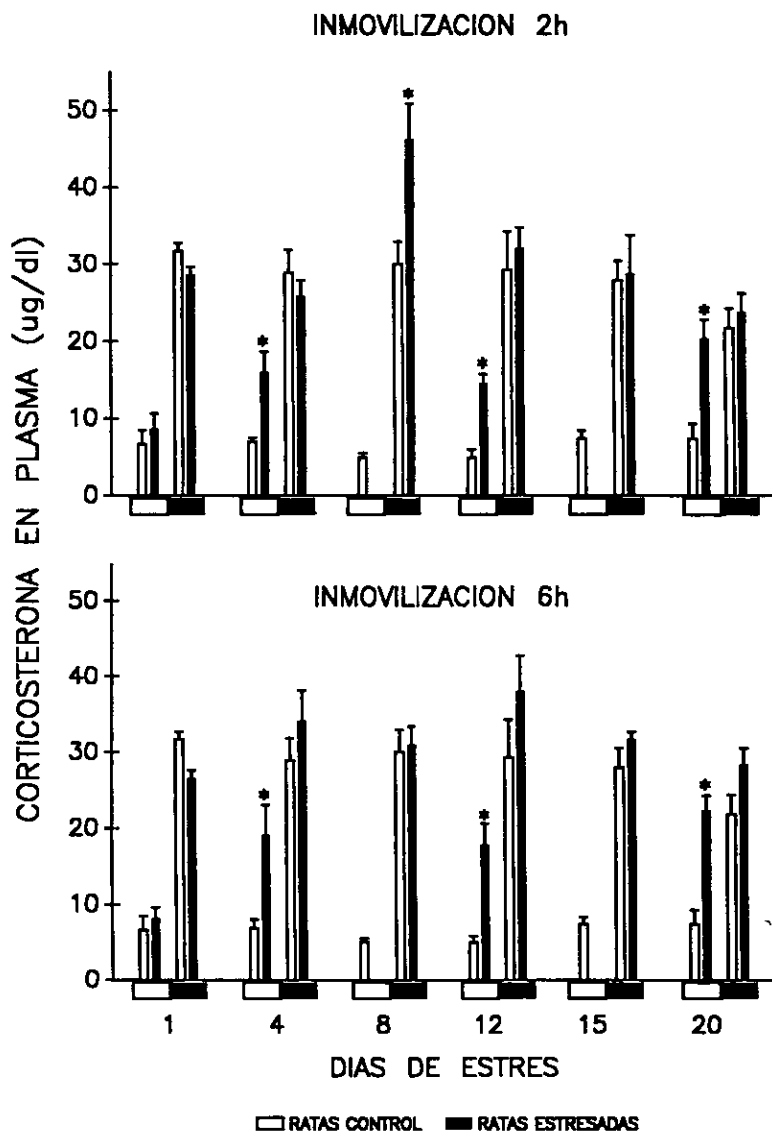


Figura 21. Niveles de corticosterona en el plasma de las ratas sometidas a estrés por IMOV-2 y por IMOV-6 al inicio de la fase luminosa y de la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad. Los niveles de esta hormona aumentaron sólo cuando estos estresores se aplicaron al inicio de la fase luminosa. Media \pm E.S. ANOVA seguida por la prueba de Tukey. * $p < 0.05$

El estrés por IMOV-2 en general no modificó los niveles plasmáticos de corticosterona cuando se aplicó al inicio de la fase de obscuridad, a excepción del día 8, en que los niveles plasmáticos de este corticosteroide fueron significativamente mayores que en el grupo control [F(45,4) = 5.97, $p < 0.0007$; Tukey, $p < 0.01$]. Sin embargo, cuando este estresor fue aplicado al inicio de la fase luminosa del ciclo, los niveles de corticosterona en respuesta a este estresor se elevaron significativamente a partir del día 4 [F(45,4) = 6.329, $p < 0.0004$; Tukey $p < 0.05$] hasta el día 20 de estrés [F(45,4) = 5.92, $p < 0.0006$; Tukey $p < 0.05$], lo que provocó una ligera disminución de la amplitud de la ciclicidad en los niveles de corticosterona en las ratas expuestas a este estresor (figura 21).

De forma similar, los niveles plasmáticos de corticosterona en las ratas sometidas a estrés por IMOV-6 al inicio de la fase de obscuridad se elevaron ligeramente, pero no significativamente, mientras que la exposición a este estresor al inicio de la fase de luz sí provocó el aumento significativo en los niveles del corticosteroide adrenal desde el día 4 [F(45,4) = 6.33, $p < 0.0004$; Tukey $p < 0.01$] hasta el 20 [F(45,4) = 5.92, $p < 0.0006$; Tukey $p < 0.05$]. Este aumento en los niveles matutinos provocó que la amplitud en la ciclicidad de los niveles de esta hormona disminuyera también en los machos expuestos a este estresor (figura 21).

En las ratas sometidas a estrés por CHEP (figura 22), no hubo modificación alguna en los niveles plasmáticos de corticosterona cuando los machos se expusieron a este estresor ya fuera al inicio de la fase de luz o al inicio de la fase de obscuridad. Incluso los niveles de esta hormona tendieron a ser menores que los valores controles en algunos de los días (1, 12 y 20).

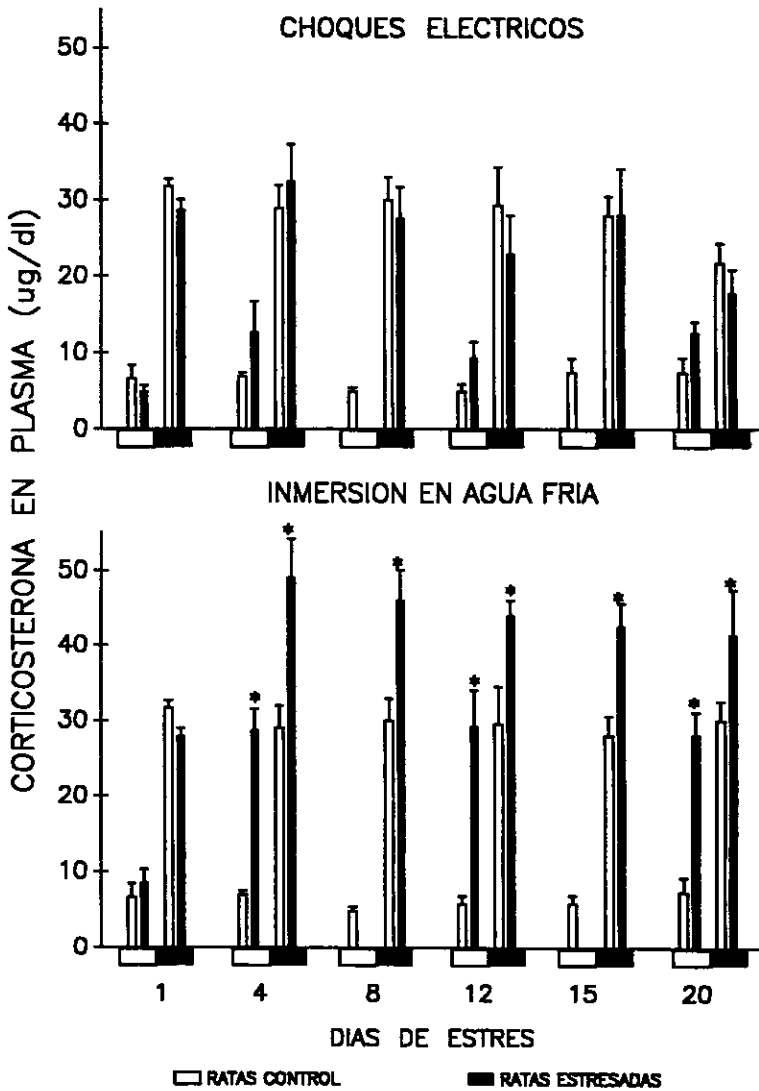


Figura 22. Niveles plasmáticos de corticosterona en los machos sometidos a estrés por CHEP y por IMS. Los CHEP no modificaron los niveles de este esteroide, mientras que la IMS causó aumentos significativos de esta hormona en el plasma, al inicio de ambas fases del ciclo de luz/oscuridad. Los niveles de corticosterona se elevaron mucho más cuando el estrés se aplicó al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/oscuridad. Media \pm E.S. ANOVA seguida de Tukey. * $p < 0.05$

El estrés por IMS provocó aumentos significativos en los niveles de corticosterona, tanto al inicio de la fase luminosa [$F(188,4) = 10.6, p < 0.0001$; tukey $p < 0.01$] como al inicio de la fase oscura [$F(4, 188) = 11.17, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$] a partir del día 4 y se mantuvieron así hasta el día 20 de estrés (figura 22). Los niveles plasmáticos de esta hormona se incrementaron casi cuatro veces en relación al control cuando el estrés se aplicó al inicio de la fase luminosa del ciclo de luz/oscuridad. Cuando el estrés se aplicó al inicio de la fase oscura del ciclo, los niveles se elevaron menos de dos veces en comparación con los niveles del grupo control.

Efecto de la administración de corticosterona exógena en la conducta sexual masculina y en los niveles plasmáticos de testosterona y corticosterona.

La administración de corticosterona exógena en los machos sexualmente expertos durante cuatro u ocho días consecutivos, no modificó ninguno de los parámetros de la conducta sexual masculina, como puede observarse en la Tabla III.

Al cuantificar la corticosterona en estas ratas después de los cuatro u ocho días de administración de la hormona se observó que los niveles plasmáticos del corticosteroide se incrementaron de manera dependiente de la dosis administrada [$F(55,5) = 77.13, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. La dosis de 2 mg provocó un aumento casi del doble en los niveles de corticosterona y con la dosis de 4 mg los niveles plasmáticos de esta hormona se incrementaron cuatro veces en relación al control (Figura 23 A).

Con respecto a los niveles de testosterona en el plasma, se observó que después de la prueba de conducta sexual los niveles plasmáticos de este andrógeno se

incrementaron más del doble en comparación con los machos que no se sometieron a la prueba de conducta sexual [$F(55,5) = 18.2, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.05$]. En cambio, ninguna de las dosis de corticosterona administradas modificó significativamente los niveles plasmáticos de testosterona al compararlos con los niveles observados en los machos control después de la prueba de conducta sexual (figura 23 B).

Tabla III. Parámetros sexuales de las ratas control y ratas con administración de corticosterona (0.5, 1, 2, 4 mg/0.2 ml).

	LM (seg)	LI (seg)	LE (seg)	NM	NI	FE (NE/30min)	IPE (seg)
VEHICULO							
4h	9.4 ± 0.3	19.7 ± 6.3	385 ± 45	5.2 ± 1.6	9.4 ± 3.6	3.2 ± 0.4	335.1 ± 12.1
4días	15.8 ± 5.9	14.7 ± 6.5	305.6 ± 52	3.8 ± 1.2	7.6 ± 1.1	3.2 ± 0.6	338 ± 11.2
CORTICOSTERONA (0.5mg)							
4h	7.2 ± 0.7	18.7 ± 4.8	389 ± 49	6.7 ± 1.2	10.5 ± 2.8	3.1 ± 0.3	385.8 ± 23.1
4días	9.1 ± 1.4	15.5 ± 4.2	401 ± 38	4.9 ± 2.3	9.3 ± 1.4	3.2 ± 0.3	373 ± 13.6
(1 mg)							
4h	9.4 ± 2.5	15.9 ± 2.9	376 ± 59	4.2 ± 1.7	8.7 ± 1.7	3 ± 0.4	363.4 ± 32.3
4días	5.2 ± 4	16.9 ± 6.4	354 ± 42	5.5 ± 3.6	10.8 ± 0.9	3.1 ± 0.2	350 ± 26.8
(2mg)							
4h	9.7 ± 1.9	19.5 ± 4.1	297 ± 54	2.5 ± 1.7	7.4 ± 1	3.1 ± 0.3	359 ± 34.9
4días	13.8 ± 2.9	27.7 ± 9.4	312.8 ± 27	3.2 ± 1.4	8.7 ± 0.6	3.1 ± 0.1	384 ± 38.5
8días	12 ± 4.2	22.8 ± 6.2	293 ± 46.1	3.7 ± 1.3	10.1 ± 1.4	3.3 ± 0.4	378 ± 30.1
(4mg)							
4h	11.4 ± 1.3	18.1 ± 3.1	378 ± 51	4.1 ± 1.2	8.8 ± 0.9	2.9 ± 0.3	374 ± 26.6
4días	10.3 ± 1.8	17.2 ± 3.3	293 ± 68	4 ± 1.5	9.6 ± 0.6	3 ± 0.1	338 ± 15.2

Media ± error estándar. LM= latencia de monta; LI= latencia de intromisión; LE=latencia de eyaculación; NM=número de montas; NI= número de intromisiones; NE= número de eyaculaciones; FE= frecuencia eyaculatoria; IPE= intervalo posteyaculatorio.

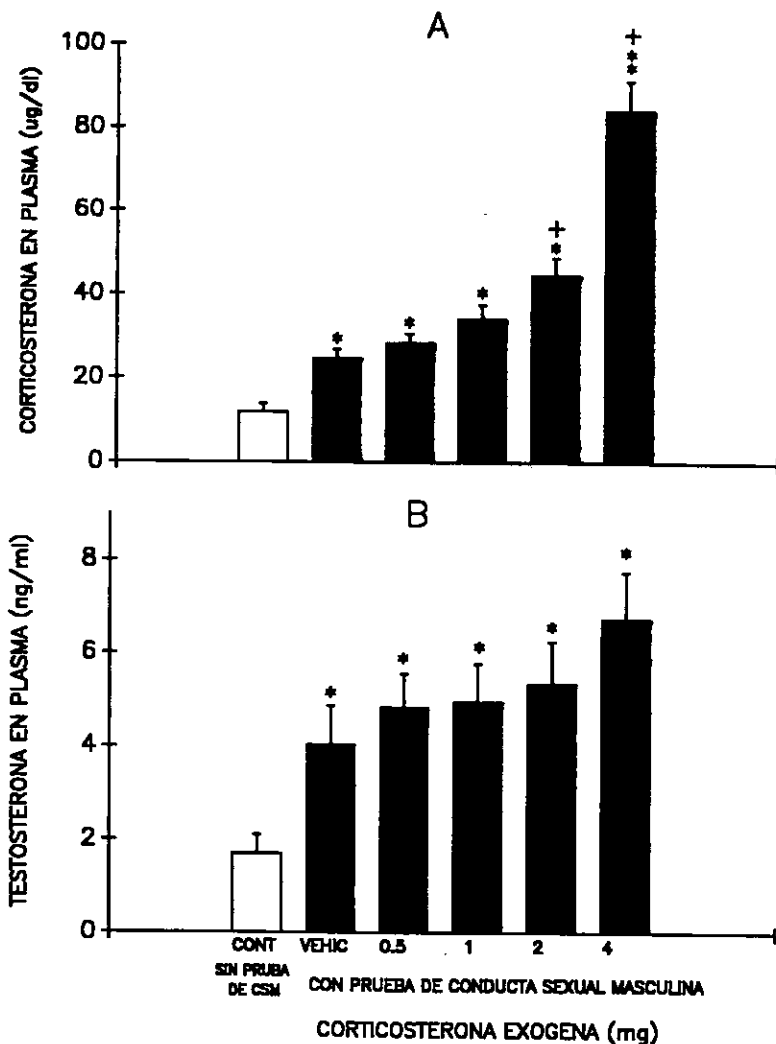


Figura 23. Niveles plasmáticos de corticosterona (A) y de testosterona (B) en ratas sexualmente expertas a las que se les administraron cuatro dosis de corticosterona (0.5, 1, 2, 4 mg/0.2ml, s.c.) o el vehículo (aceite). Ambas hormonas se incrementaron después de la prueba de conducta sexual. La administración de corticosterona no afectó los niveles de testosterona en plasma. ANOVA seguida de Tukey. * $p < 0.05$ respecto al grupo control sin prueba de conducta; + $p < 0.05$ respecto al grupo control con prueba de conducta.

Efecto de la naltrexona sobre las alteraciones en la conducta sexual masculina causadas por el estrés.

La exposición de las ratas al estrés por CHEP provocó incremento en sus latencias de monta en casi todos los días de evaluación [$F(355,5) = 27.46, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. La administración de naltrexona (1.5 mg/Kg) antes de exponer a los machos a los CHEP previno el incremento que este estresor causó sobre la latencia de monta. Estos efectos se presentaron prácticamente en todos los días de la evaluación de la conducta sexual masculina (figura 24). En las ratas sometidas a estrés por IMS esta misma dosis de naltrexona también bloqueó los efectos del estresor sobre este parámetro, excepto el día 4. La dosis más alta del antagonista opiáceo (3 mg/Kg) bloqueó de manera más efectiva los efectos del estrés por IMS (figura 24).

Resultados similares se obtuvieron en las latencias de intromisión. Las ratas sometidas a los CHEP tuvieron latencias de intromisión significativamente mayores que las del grupo control [$F(355,5) = 47.73, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. Con la administración de naltrexona (1.5mg/Kg) antes de la exposición a los CHEP los machos tuvieron latencias de intromisión semejantes a las de los machos control (figura 25). Las latencias de intromisión de los machos sometidos a IMS fueron significativamente mayores que las del grupo control en todos los días de la evaluación conductual [$F(355,5) = 47.73, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. La dosis baja de naltrexona no tuvo efectos consistentes sobre este parámetro. Los machos a los que se les administró la dosis alta de naltrexona (3 mg/Kg) antes de someterlos a la IMS tuvieron latencias de intromisión similares a las del grupo control (figura 25).

79 **ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

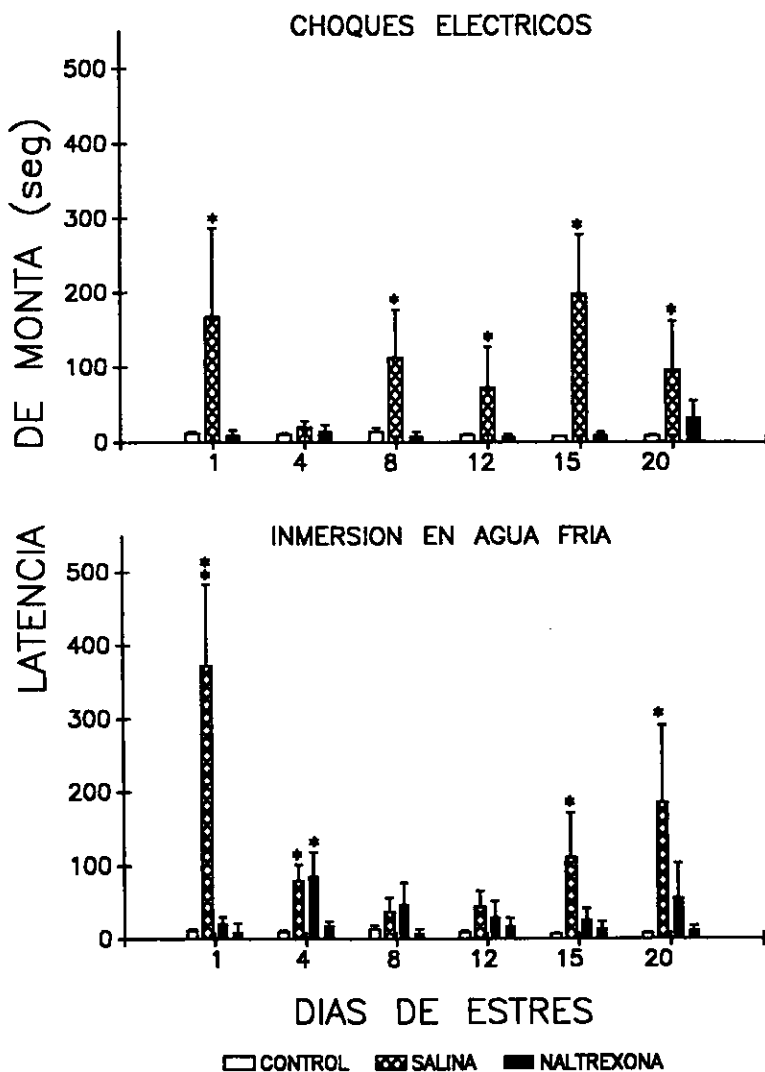


Figura 24. Latencias de monta de los machos sometidos a CHEP o IMS. Los incrementos en este parámetro debidos al estrés fueron bloqueados por la naltrexona (1.5mg/Kg) en las ratas sometidas a CHEP. En las ratas sometidas a IMS, la dosis de naltrexona de 3mg/Kg bloqueó el efecto del estrés sobre este parámetro. Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples. * $p > 0.05$; ** $p < 0.01$

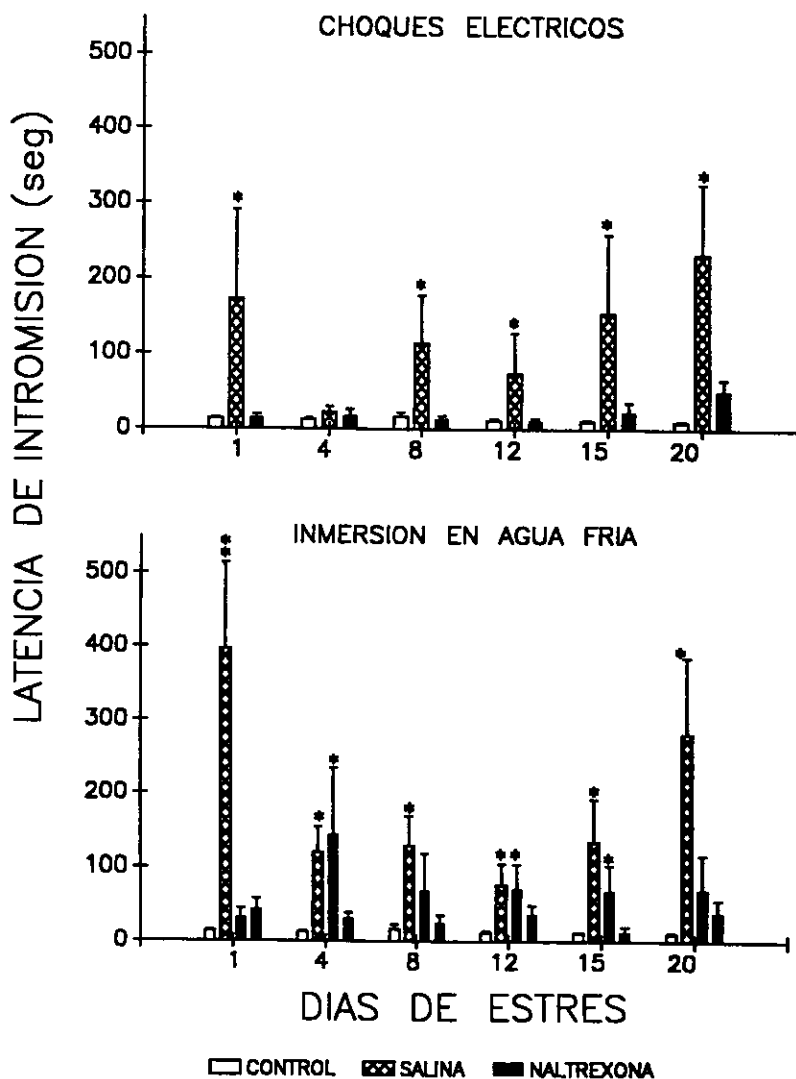


Figura 25. Latencias de intromisión de machos sometidos a CHEP o a IMS. Ambos estresores provocaron incrementos significativos en este parámetro y la naltrexona bloqueó el efecto de los CHEP. En las ratas sometidas a IMS los efectos del estrés fueron bloqueados con la dosis mayor del antagonista opiáceo (3 mg/Kg). Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn para las comparaciones entre grupos. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

Las ratas sometidas a los CHEP presentaron latencias de eyaculación significativamente mayores en casi todos los días de la evaluación conductual [$F(355,5) = 126.78, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. Los machos a los que se les administró naltrexona antes de la aplicación de los CHEP, tuvieron latencias de eyaculación parecidas a las de los machos control no estresados, en todos los días de evaluación de la conducta sexual (figura 26).

Por otra parte, en los machos sometidos a IMS, la dosis baja de naltrexona (1.5 mg/Kg), no fue capaz de prevenir los efectos de dicho estresor sobre la latencia de eyaculación [$F(355,5) = 126.78, p < 0.0001$; Tukey $p < 0.01$]. En los machos a los que se les administró la dosis más alta de naltrexona (3 mg/Kg), las latencias de eyaculación fueron similares a las del grupo control (figura 26).

El número de eyaculaciones por sesión disminuyó significativamente en las ratas sometidas tanto a IMS como a CHEP [$F(355,5) = 200.2, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. La dosis baja de naltrexona (1mg/Kg) bloqueó este efecto en las ratas sometidas a CHEP (figura 27). En las ratas sometidas a IMS la administración de la dosis baja de naltrexona no evitó los efectos de dicho estresor en todos los días de la evaluación conductual. Solamente con la dosis mayor de naltrexona (3 mg/Kg) previa a la exposición al estresor, los machos estresados presentaron frecuencias de eyaculación más cercanas a las del grupo control. Sin embargo, el análisis multivariado, con el que se compararon los grupos, mostró que las ratas con ambas dosis de naltrexona tuvieron en general, frecuencias de eyaculación menores que las del grupo control [$F(355,5) = 200.2, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$], como se muestra en la figura 27.

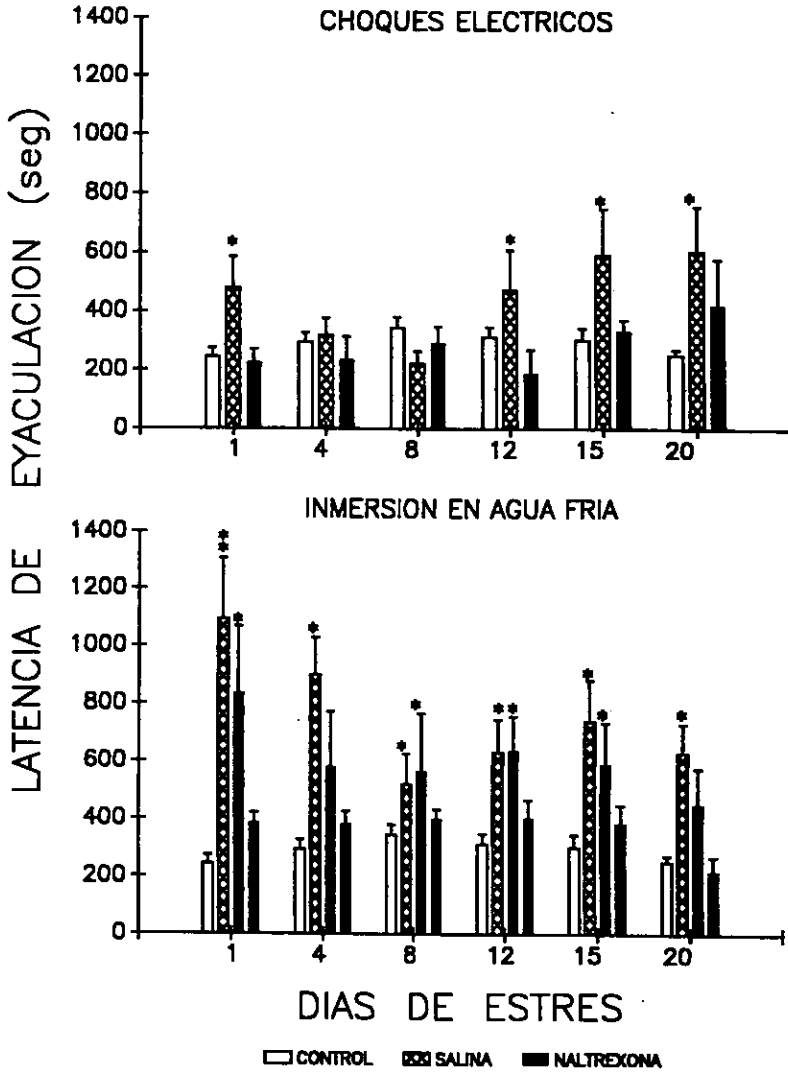


Figura 26. Latencias de eyaculación en machos sometidos a estrés por CHEP o IMS. Los machos expuestos a los CHEP a los que previamente se les administró naltrexona tuvieron latencias semejantes a las de los machos control, no estresados. En las ratas sometidas a IMS, sólo la dosis alta de naltrexona bloqueó el efecto de este estresor sobre la latencia de eyaculación. Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn para comparaciones entre grupos, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

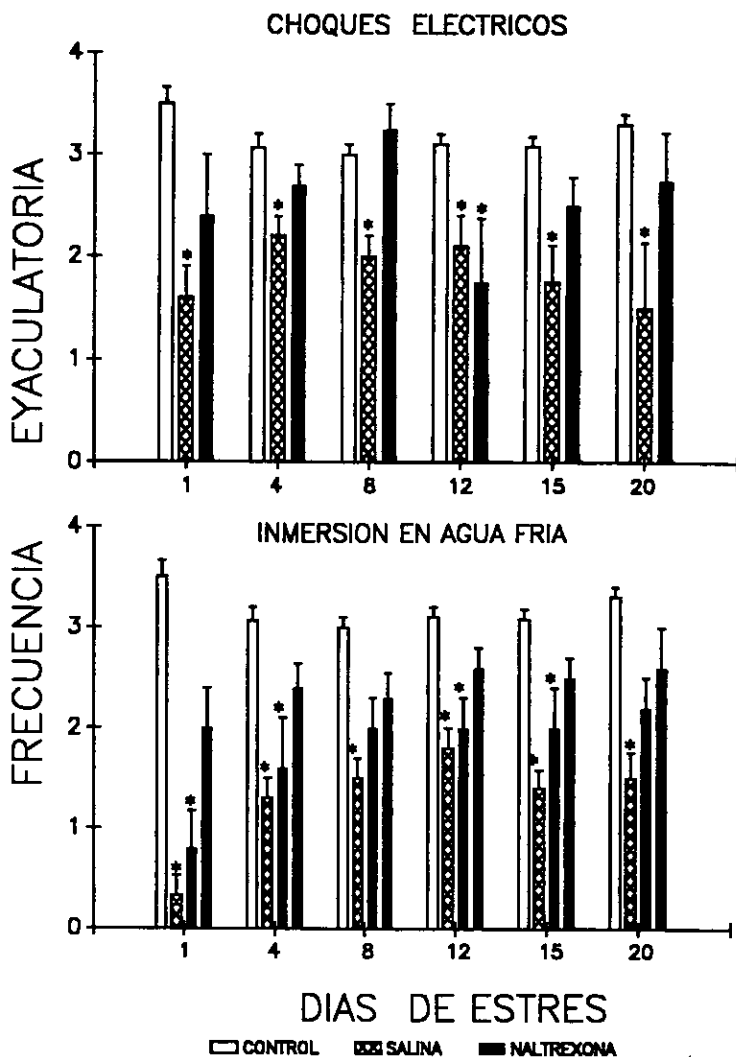


Figura 27. Frecuencia de eyaculación en los machos expuestos a estrés por CHEP o IMS. La administración de naltrexona previa a la exposición de los estresores bloqueó los efectos del estrés sobre la frecuencia eyaculatoria. Los efectos de la IMS fueron bloqueados sólo con la dosis mayor de naltrexona. Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples, * $p < 0.05$

El número de montas que precede a la primera eyaculación se incrementó de manera significativa por efecto de la exposición a los CHEP, lo mismo que a la IMS [$F(355,5) = 69.21$, $p < 0.0001$, Tukey, $p < 0.01$] en todos los días de evaluación de la conducta sexual masculina. La administración previa de la dosis baja de naltrexona previno completamente el efecto de los CHEP sobre este parámetro.

En los machos sometidos a IMS, el número de montas fue significativamente mayor que en los machos control. En los machos a los cuales se les administró naltrexona antes de ser expuestos a la IMS, el número de montas que presentaron fue semejante al de los machos del grupo control en todos los días de la evaluación de la conducta sexual masculina. Como puede verse en la figura 28, ambas dosis de naltrexona tuvieron efecto positivo en el número de montas en los machos estresados.

Las tasas de aciertos que tuvieron los machos sometidos a estrés por CHEP fueron significativamente menores que las del grupo de machos control [$F(355,5) = 33.7$, $p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$], en la mayoría de los días de estrés en los que se evaluó la conducta sexual masculina. En los machos estresados mediante los CHEP, a los que previamente se les administró la dosis menor de naltrexona (1.5 mg/Kg), se observaron tasas de aciertos semejantes a las del grupo control.

En los machos expuestos a IMS, la administración de la dosis menor de naltrexona (1.5 mg/Kg) previno los efectos negativos de este estresor sobre la tasa de aciertos, aunque no en todos los días de la evaluación conductual. La dosis más alta de naltrexona sí bloqueó el efecto del estrés por IMS sobre la tasa de aciertos en todos los días de la evaluación de la conducta sexual masculina (figura 29).

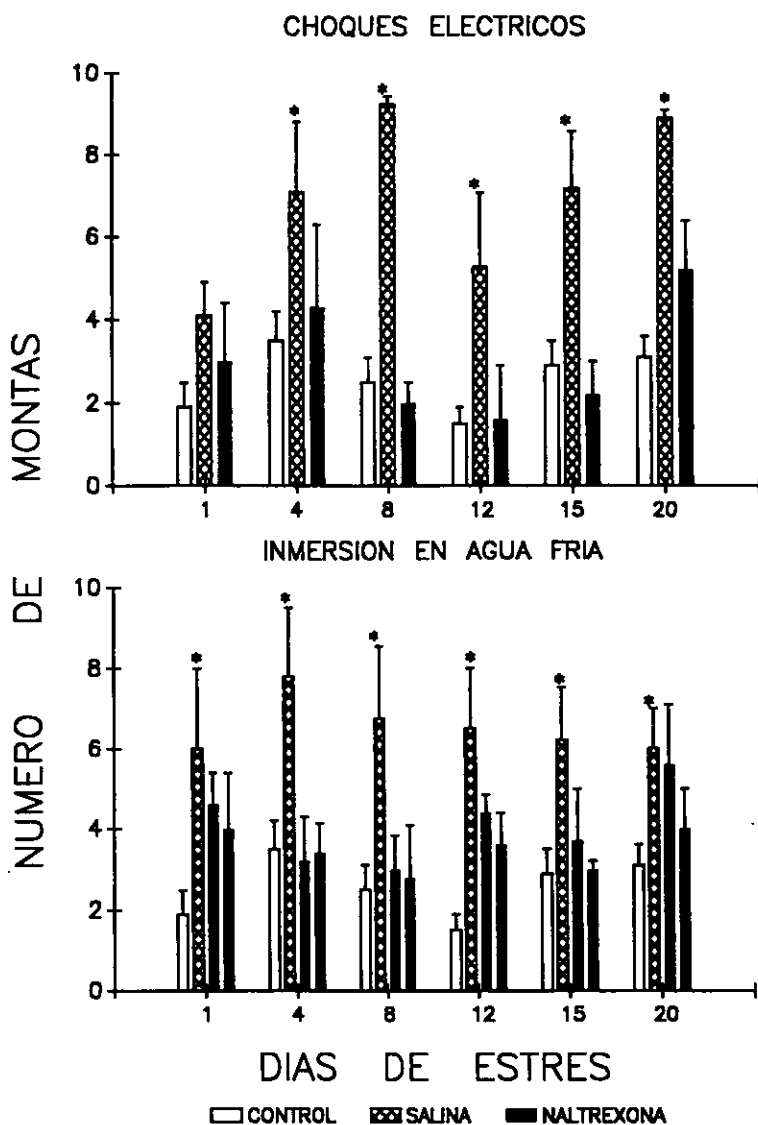


Figura 28. Número de montas que preceden a la primera eyaculación en los machos expuestos a CHEP o IMS. Los machos a los que se les administró naltrexona antes de la exposición a los estresores tuvieron un número de montas similar al del grupo control, no estresado. Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples, * $p < 0.05$

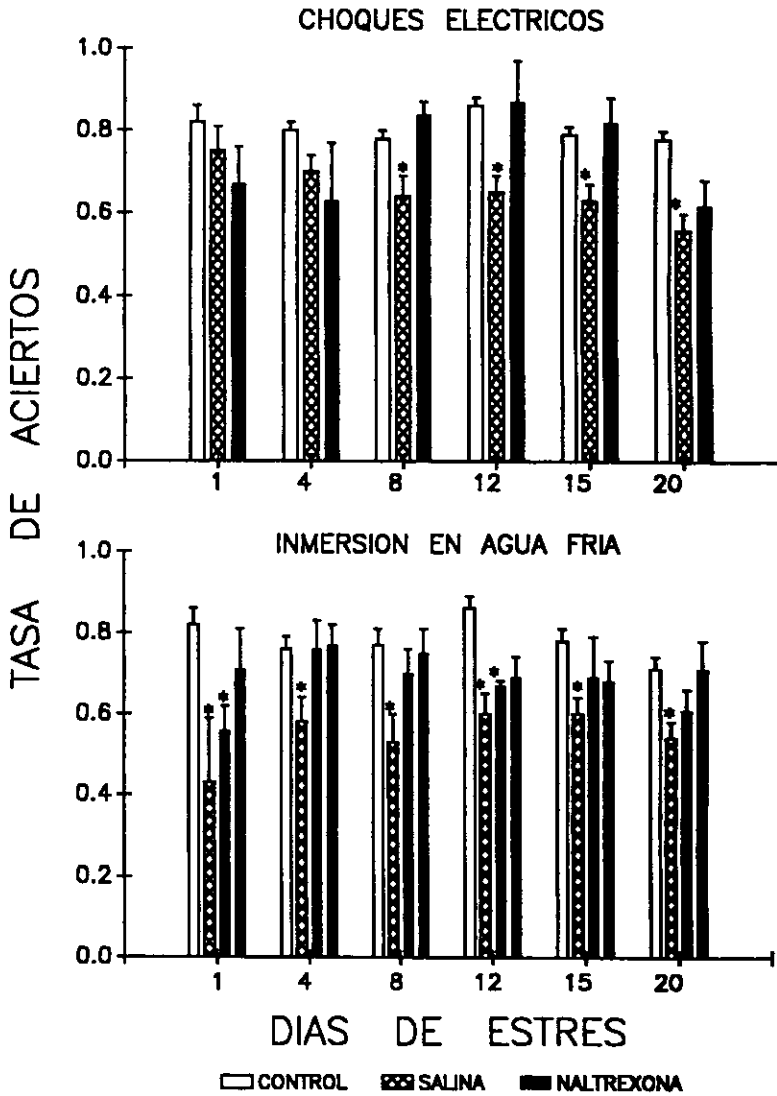


Figura 29. Tasas de aciertos en ratas sometidas a estrés por CHEP o IMS. Los machos a los que se les administró naltrexona antes de la exposición a los estresores, tuvieron tasas de aciertos similares a las de los machos no estresados. Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de Dunn, * $p < 0.05$

El intervalo interintromisión promedio se incrementó en los machos estresados, tanto por CHEP como por IMS [$F(355,5) = 64.48$, $p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. En los machos sometidos a CHEP, a los que previamente se les administró la dosis de 1.5 mg/Kg de naltrexona, los intervalos interintromisión promedio fueron muy parecidos a los de los machos del grupo control no estresados.

En el caso de las ratas sometidas a estrés por IMS, con administración previa de la dosis baja de naltrexona, se observó que este parámetro de la conducta sexual se mantuvo incrementado de manera significativa. En cambio, en los machos a los cuales se les administró la dosis alta de naltrexona antes de aplicar el estresor, los intervalos interintromisión fueron semejantes a los de los machos no estresados (figura 30).

El intervalo posteyaculatorio en los machos expuestos al estrés por CHEP se incrementó significativamente sólo en los días 1 y 15 de evaluación de la conducta sexual. Con la administración previa de naltrexona, los machos expuestos a los CHEP tuvieron intervalos posteyaculatorios semejantes a los del grupo control.

En los machos sometidos a estrés por IMS, los intervalos posteyaculatorios fueron significativamente mayores a los de los machos control en todos los días de evaluación conductual. Estos mismos resultados se observaron en los machos a los que se les administró la dosis baja de naltrexona [$F(355,5) = 135.1$, $p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. En los machos a los que se les administró la dosis alta de naltrexona antes de la exposición a la IMS, los intervalos posteyaculatorios fueron semejantes a los valores observados en los machos control no estresados (figura 31).

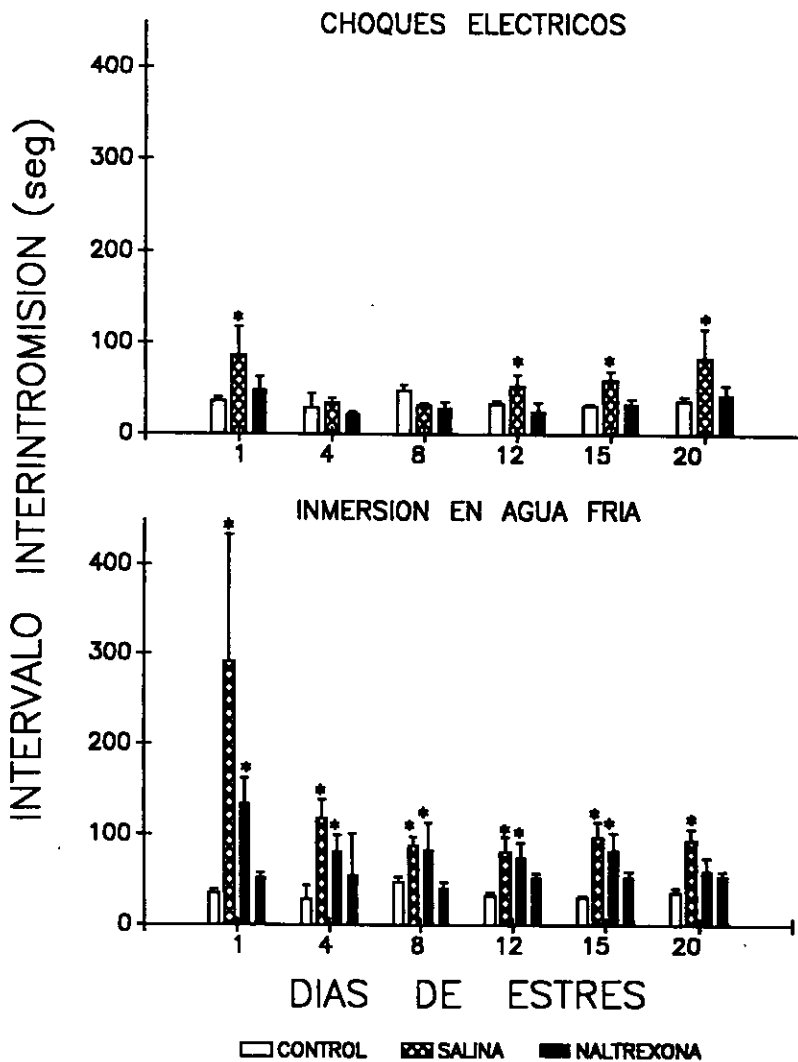


Figura 30. Intervalos interintromisión en ratas expuestas a CHEP o IMS. El incremento en este parámetro causado por los CHEP fue bloqueado por la naltrexona. En las ratas sometidas a IMS fue necesaria una dosis mayor de naltrexona para prevenir el efecto de la IMS sobre este parámetro. Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis seguida de Dunn, * $p < 0.05$

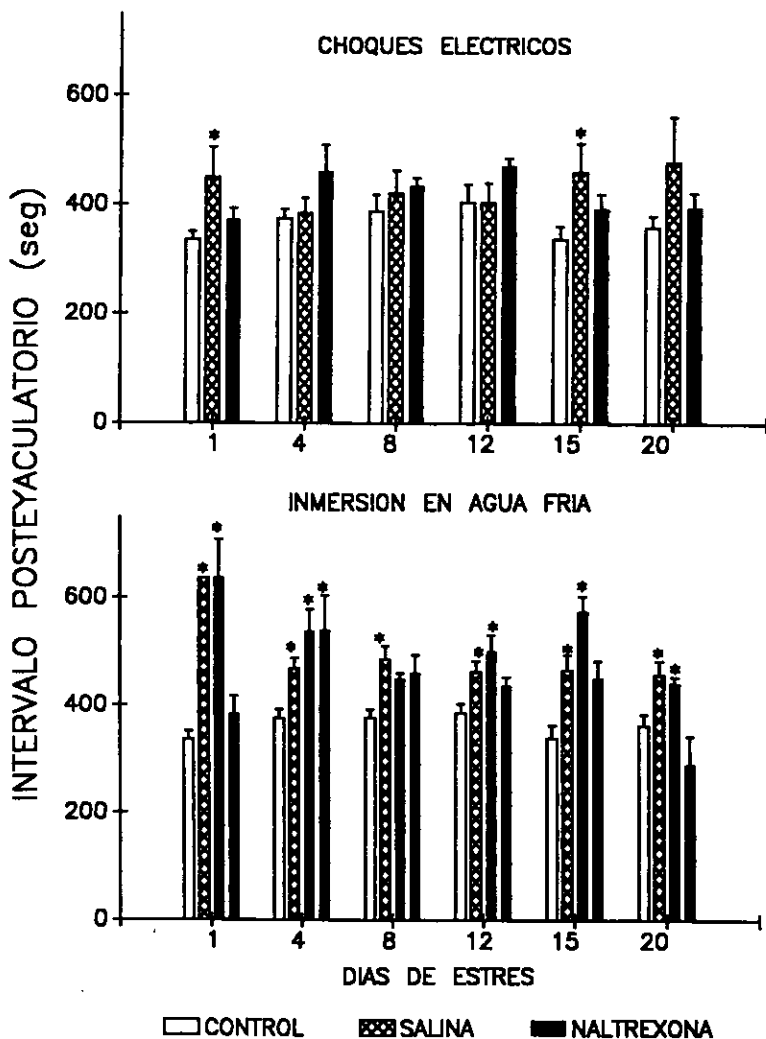


Figura 31. Intervalo posteyaculatorio en los machos sometidos a estrés por CHEP o IMS. Los CHEP no tuvieron efecto negativo consistente sobre este parámetro. Los incrementos en los valores de este parámetro por efecto de la IMS fueron bloqueados sólo por la dosis mayor de naltrexona (3 mg/Kg). Media \pm E.S. ANOVA Kruskal-Wallis, seguida de Dunn, * $p < 0.05$

Efecto de la naltrexona sobre las modificaciones de los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona por efecto del estrés.

Los niveles plasmáticos de corticosterona se incrementaron significativamente por la actividad sexual de los machos, al compararlos con los machos control a los que no se les evaluó la conducta sexual [$F(64,6) = 25.2, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.05$]. La exposición de los machos a los CHEP no causó ningún incremento adicional en los niveles de esta hormona (figura 32). Como se observa en esta figura, el estrés por IMS provocó un incremento significativo en los niveles de corticosterona y la administración de naltrexona (ambas dosis) previno el efecto de la IMS sobre los niveles de este corticosteroide [$F(64,6) = 25.2, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$].

Los niveles plasmáticos de testosterona también se incrementaron de manera significativa por la actividad sexual de los machos [$F(64,6) = 61.6, p < 0.0001$; Tukey, $p < 0.01$]. La exposición de los machos a los CHEP disminuyó significativamente los niveles de testosterona en el plasma, en comparación con los machos no estresados. La naltrexona (1.5 mg/Kg) previno parcialmente este decremento causado por los CHEP, ya que los niveles de este andrógeno en el grupo de naltrexona-CHEP aún fue significativamente menor que en los machos control no estresados (Tukey, $p < 0.01$), como se muestra en la figura 33. Resultados similares se observaron en las ratas sometidas a estrés por IMS, ya que, en estos animales los niveles plasmáticos de testosterona fueron significativamente menores que los de los machos control. La naltrexona bloqueó el efecto del estrés de manera dosis-dependiente, pero los niveles de testosterona en los machos a los que se les administró el antagonista opiáceo aún fueron menores que los del grupo de machos no estresados (Tukey, $p < 0.01$; figura 33).

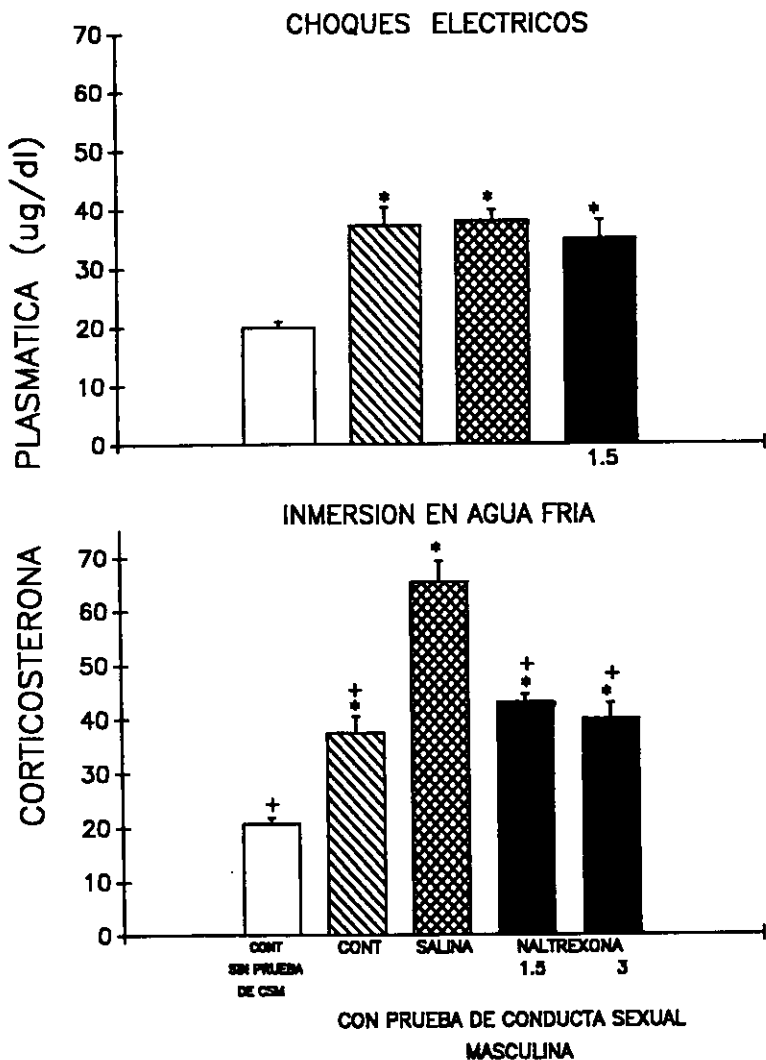


Figura 32. Niveles plasmáticos de corticosterona en las ratas control, con y sin evaluación de la conducta sexual, y en los machos sometidos a estrés por CHEP o IMS, con y sin administración de naltrexona. El incremento que la IMS causó en los niveles de esta hormona fue bloqueado por la naltrexona. Media \pm E.S. ANOVA seguida de Tukey. * $p < 0.05$, en comparación con el control sin evaluación de conducta sexual; + $p < 0.01$ en comparación con el grupo de salina-IMS.

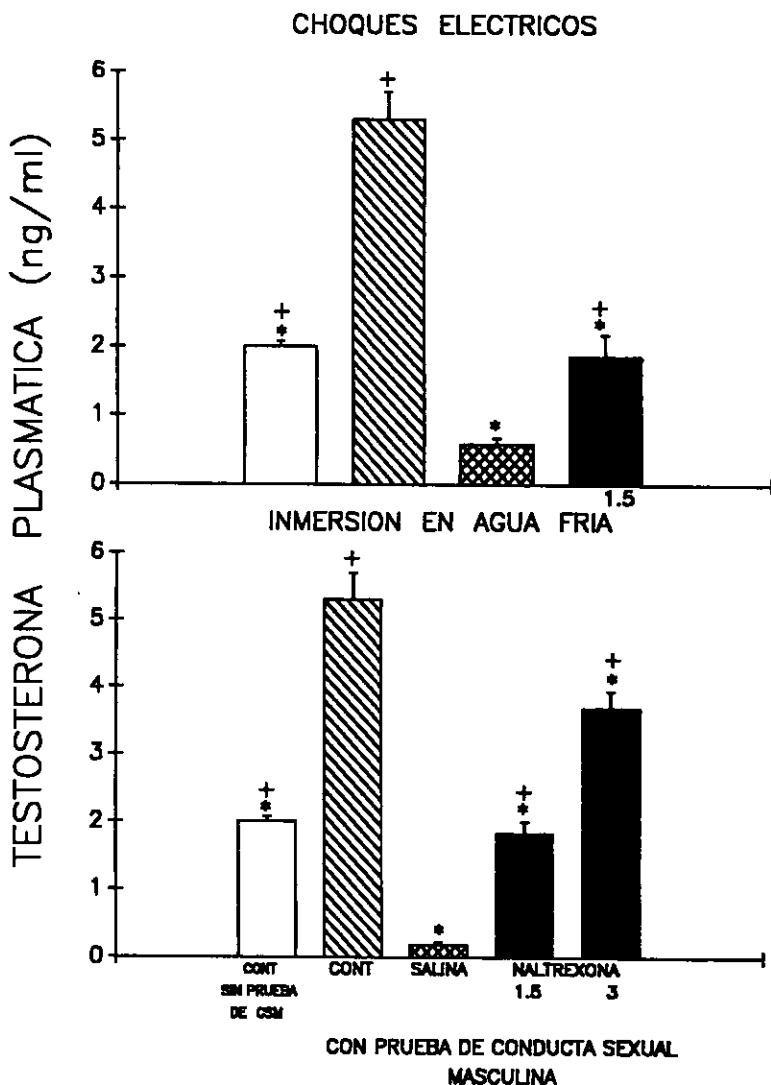


Figura 33. Niveles plasmáticos de testosterona en los machos control, con y sin evaluación de conducta sexual, y en los machos estresados por CHEP o IMS, con y sin administración de naltrexona. La testosterona se incrementó con la actividad copulatoria y disminuyó por efecto de ambos estresores. La naltrexona previno parcialmente el efecto del estrés sobre esta hormona. Media \pm E.S. ANOVA seguida de Tukey. * $p < 0.05$ comparado con el control con evaluación de conducta sexual; + $p < 0.01$ comparado con los grupos de salina-estrés.

A pesar de que los niveles de testosterona en las ratas estresadas fueron muy bajos, fue posible constatar la presencia de tapones seminales en las hembras que copularon con los machos estresados. Asimismo, en estos tapones seminales pudo constatarse, mediante microscopía, la presencia de abundantes espermatozoides con movilidad en todas las series copulatorias.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la conducta sexual masculina en las ratas macho, así como los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona se modifican de manera diferencial, de acuerdo con las características (específicamente la intensidad) de cada estresor, así como por el tiempo de exposición (aguda o crónica) a los mismos. Resultados similares han sido reportados por otros autores al comparar los efectos de otros estresores, diferentes en intensidad y duración. Ellos observaron que la actividad sexual de los machos se redujo de manera dependiente de la intensidad del estresor utilizado (Pednekar et al, 1993). De la misma manera, Moberg y colaboradores (1983) han demostrado que la exposición de carneros a diferentes tipos de estresores psicológicos (aislamiento, inmovilización o exposición a un macho extraño), provoca respuestas diferentes en la corteza suprarrenal. Asimismo, se han observado diferencias en la expresión del c-fos que son dependientes del tipo de estresor que se utilice. La exposición repetida de las ratas a estresores homotípicos, como la inmovilización durante dos horas, disminuye e incluso elimina la expresión de c-fos en diferentes estructuras cerebrales (Melia et al, 1994). Por el contrario, la exposición crónica al estrés social (estrés por derrota) en ratones induce la expresión

persistente del c-fos en el hipotálamo, amígdala, septum e hipocampo, lo mismo que en el tallo cerebral (Matsuda et al, 1996). Estos datos corroboran que el organismo responde de manera diferente al estresor aplicado, ya que el hipotálamo es capaz de responder a una gran variedad de estresores. Esta respuesta depende, además de la intensidad del estresor, de la duración de éste, de la experiencia previa del animal, así como de la posición de dominancia del animal dentro de un grupo social (Lightman, 1994).

Los estresores que se utilizaron en este trabajo son mixtos (esto es, que involucran componentes físicos y psicológicos), de los más comúnmente empleados en la investigación científica y de los cuales se ha demostrado, por una parte, que activan de manera efectiva al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y, por otro lado, que son capaces de alterar los niveles plasmáticos de LH y de testosterona (Natelson et al, 1981; Collu et al, 1984b; Lesniewska et al, 1990; Prince y Anisman, 1990; Elias et al, 1991; Rivest y Rivier, 1991; Schedlowski et al, 1995). Por otro lado, se ha demostrado anteriormente que los CHEP y la IMOV modifican la conducta sexual masculina (Barfield et al, 1968; Menéndez-Patterson et al, 1978).

Las evaluaciones de la conducta sexual masculina en este trabajo se realizaron una hora después de la aplicación de cada estresor debido a que existen trabajos en los que se muestra que los niveles plasmáticos de las hormonas pertenecientes al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (CRF, ACTH, corticosterona), así como las del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (LHRH, LH, FSH y testosterona) se alteran desde los primeros minutos de estrés y permanecen modificados durante más de una hora (Armario et al, 1986; Norman y Smith, 1992). Cabe mencionar que no se observaron

alteraciones en la actividad locomotora que pudieran interferir con el desempeño sexual en los machos cuando se les evaluó su conducta sexual.

Una observación importante en este trabajo fue que la actividad sexual de los machos causó incremento en los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona. Este efecto ha sido observado anteriormente en las ratas (Posner y Conway, 1981; Poggioli et al, 1984) y se ha observado también en los machos de otras especies de vertebrados como los caballos (Colborn et al, 1991), ratones (Bronson y Desjardins, 1982), las lagartijas (Lindzey y Crews, 1992), los tritones (Zerani y Gobbetti, 1993), cameros (Borg et al, 1992) y anfibios (Licht et al, 1983; Mendonça et al, 1985). Sin embargo, el papel fisiológico que pudiera tener el incremento de estas dos hormonas por efecto de la actividad sexual (las cuales en situaciones de estrés son antagónicas) es aún desconocido, aunque en algunos casos se ha propuesto que su función sería preparar a los machos para las situaciones de competencia, territorialidad y cortejo a las hembras durante la estación reproductiva (Bronson et al, 1982; Taylor et al, 1987; Borg et al, 1992; Zerani y Gobbetti, 1993; Schuett et al, 1996).

Estrés por choques eléctricos.

Es bien sabido que la exposición aguda de ratas machos a los choques eléctricos estimula el aspecto motivacional (latencia de monta) de la conducta sexual masculina y se presenta durante los primeros 5 segundos que siguen a la aplicación del choque eléctrico (Barfield et al, 1968). En este trabajo se pudo constatar esta facilitación inmediatamente después de finalizar las primeras cinco exposiciones a los CHEP, pero no en las exposiciones subsecuentes.

Una hora después de exponer a los machos a este estresor no se observó facilitación en ninguno de los parámetros conductuales sexuales. Por el contrario, la exposición aguda a los CHEP incrementó la latencia de intromisión y el número de montas y disminuyó la tasa de aciertos y la frecuencia de eyaculación en las ratas expuestas a este estresor.

La exposición repetida a los CHEP afectó negativamente el aspecto motivacional (aumentando las latencias de monta y de intromisión, así como el intervalo interintromisión), lo mismo que el componente ejecutorio (aumentando el número de montas, y disminuyendo la tasa de aciertos), el umbral eyaculatorio (elevando las latencias de eyaculación) y el potencial copulatorio (disminuyendo el número de eyaculaciones por prueba) de la conducta sexual masculina. Estos efectos se acentuaron conforme aumentó el número de exposiciones de las ratas a este estresor.

En numerosos estudios se ha demostrado que diferentes estresores provocan incremento de los niveles de corticosterona; este incremento se ha asociado constantemente con la disminución en los niveles plasmáticos de LH y de testosterona (Kime et al, 1980; Collu et al, 1984; Moore y Miller, 1984; Rivier y Vale, 1984; Sapolsky, 1987; Tokarz, 1987; Rivest et al, 1991; Opstad, 1994). Por ello, se ha propuesto que el estrés altera los diferentes aspectos reproductivos en los machos a través de esta relación antagónica entre los corticosteroides y los esteroides gonadales. Por ello se evaluaron las modificaciones en los niveles de corticosterona en respuesta a los estresores utilizados.

Los resultados de este trabajo muestran, sin embargo, que los efectos negativos de la exposición repetida a los CHEP sobre la conducta sexual masculina en las ratas no

pueden ser explicados o asociados a los cambios en los niveles de corticosterona, ya que este estresor no causó modificaciones en los niveles del corticosteroide en ninguno de los días de estrés y en cambio sí provocó la disminución de los niveles plasmáticos de testosterona en las ratas expuestas a este estresor.

Los niveles plasmáticos de corticosterona observados en este trabajo no concuerdan con lo observado por otros autores quienes han descrito que la exposición de las ratas a los CHEP provoca aumento significativo en los niveles plasmáticos de corticosterona (Rivier et al, 1986), tanto en la fase de luz como en la de oscuridad (Ishikawa et al, 1992). Esto puede deberse a que el tiempo de exposición al estrés por CHEP utilizado en este trabajo fue muy corto (5 minutos), lo mismo que la duración de los choques (200 mseg). Aquellos autores aplicaron los choques eléctricos durante un periodo de tiempo más largo (1-3 horas) y con una mayor duración de cada choque (2 ó 10 seg). Esto implica que el estrés psicológico causado por esas condiciones experimentales parece ser mucho mayor que en este estudio, lo que, aunado a la duración de las sesiones, activa al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal de manera efectiva.

A pesar de lo corto de las sesiones de CHEP en este estudio, los registros conductuales mostraron alteraciones significativas en los diferentes parámetros sexuales en comparación con el grupo de machos no estresados. Es posible que estas alteraciones observadas en la conducta sexual masculina de estos animales puedan encontrar una explicación en las modificaciones de ciertos neurotransmisores como la serotonina (5-HT) y la epinefrina. Como se sabe, la serotonina es un neurotransmisor que tiene efectos inhibitorios sobre la conducta sexual masculina (Södersten y Larsson, 1976; Ahlenius et al, 1980; Hillegaard et al, 1991; Hull et al, 1993) y existen evidencias

de que la 5-HT aumenta en diversas áreas cerebrales durante el estrés crónico (Frajese et al, 1990; Delbende et al, 1992). Por otra parte, la noradrenalina y la dopamina estimulan la conducta sexual en los machos (Pfaus y Phillips, 1991) y se ha demostrado que el estrés por CHEP causa disminución en los niveles de epinefrina y norepinefrina en diversas regiones cerebrales como el hipotálamo, la amígdala y la corteza cerebral (Iimori et al, 1982; Glavin, 1985; Cohen et al, 1986; Shanks et al, 1991). Considerando que la norepinefrina facilita la conducta sexual masculina en machos intactos (Johnson y Diamond, 1969; Clark et al, 1984) y castrados (Clark et al, 1985), es posible que la disminución en los niveles de este neurotransmisor central afecte negativamente a esta conducta durante el estrés crónico por CHEP. Adicionalmente, se ha reportado que en las ratas sometidas a estrés psicológico (ratas que están en contacto visual con otras que reciben choques eléctricos por una hora) durante 10 semanas consecutivas, disminuye su actividad sexual (Sato et al, 1992) y que en estos machos sometidos a estrés psicológico disminuye el contenido de catecolaminas, específicamente dopamina (Sato y Kumamoto, 1992) y norepinefrina (Sato et al, 1996), así como sus metabolitos, en la amígdala y en el APOm, las cuales son reconocidas como áreas cerebrales de importancia crítica en la regulación de la conducta sexual masculina. De acuerdo con lo anterior, puede concluirse que el efecto inhibitorio del estrés por CHEP sobre la conducta sexual masculina, en este trabajo se debe en parte, a la disminución en los niveles de diferentes neurotransmisores cerebrales que están relacionados con esta conducta y no a modificaciones en los niveles plasmáticos de corticosterona o a alteraciones cerebrales producidas por este esteroide.

Otra explicación sería que los efectos conductuales del estrés por CHEP se deban al incremento de un esteroide cortical, diferente de la corticosterona, pues en los cromatogramas obtenidos se observó un marcado incremento en las concentraciones de otro compuesto que no se ha identificado, pero que podría ser otro corticosteroide, el cual se eleva de manera consistente, especialmente los días 15 y 20 de estrés. Esto podría explicar en parte la hipertrofia suprarrenal observada en los machos sometidos a este estresor en los días ya mencionados.

Por otra parte, se ha postulado la posibilidad de que los circuitos neuronales centrales relacionados con el estrés pueden inhibir directamente el componente motivacional de la conducta sexual (Dornan et al, 1989). Así, dos de los principales péptidos neuronales que inhiben la conducta sexual masculina, están relacionados con la respuesta central a los estímulos estresantes. Estos péptidos son el CRF y las β -endorfinas. Se sabe que ambos péptidos pueden inhibir la motivación sexual actuando directamente sobre las estructuras centrales que regulan el componente motivacional de la conducta sexual (Pfaus y Gorzalka, 1987; Sirinathsinghji, 1987; Dornan et al, 1989). Como se sabe, el CRF es el principal mediador central de las respuestas hormonales al estrés, y la inyección intracerebroventricular de este péptido inhibe la conducta sexual masculina (Emeric-Sauval, 1986; Sirinathsinghji, 1987; Nemeroff, 1988; Demura, 1994). Es posible que el CRF inhiba la conducta sexual masculina en las situaciones de estrés mediante la acción directa en el APOm, o indirectamente a través de la liberación de la proopiomelanocortina (POMC), de la cual se derivan las β -endorfinas, péptidos también inhibitorios de la conducta sexual masculina. Se ha detectado CRF dentro del APOm y se ha mostrado que el estrés disminuye los niveles

de CRF en esa estructura central, probablemente debido a su liberación en ese sitio (Owens et al, 1988).

En varios estudios se ha observado que el estrés por choques eléctricos en las ratas provoca la liberación de opioides endógenos hipotalámicos, específicamente β -endorfinas, asociada con el incremento de estos opioides en el plasma (Rossier et al, 1977; Millan et al, 1981; Hughes et al, 1987; 1989; Young, 1990; Olson et al, 1993). Este incremento en los niveles plasmáticos de las β -endorfinas se debe a que son liberados de la hipófisis en respuesta a diferentes formas de estrés en los animales de laboratorio (Meyerhoff et al, 1988).

La mayoría de las β -endorfinas hipotalámicas provienen de las neuronas POMC del núcleo arcuato. Estas neuronas proveen de inervación β -endorfinica al APOm (Dorman et al, 1989) y es probable que el estrés también provoque la liberación de β -endorfinas dentro del APOm, aunque esto no ha sido demostrado directamente. Esta serie de evidencias sugiere que las β -endorfinas endógenas podrían inhibir la conducta sexual masculina actuando tanto como hormona liberada de la hipófisis como neurotransmisor liberado de las neuronas POMC hacia el APOm en respuesta al estrés (Dorman et al, 1989).

Los datos obtenidos en este trabajo apoyan esta hipótesis, ya que la administración del antagonista opiáceo naltrexona previno los efectos del estrés por CHEP sobre los parámetros de los componentes motivacional (latencias de monta y de intromisión, y el intervalo interintromisión) y ejecutorio (número de montas, tasa de aciertos, latencia y frecuencia de eyaculación) de la conducta sexual masculina.

Este antagonista de los receptores opiáceos μ (μ) tiene un efecto de larga duración, se absorbe casi completamente en el tracto gastrointestinal y es aproximadamente 10 veces más potente que la naloxona (Young y Woods, 1982; Olson et al, 1994; Feldman et al, 1997).

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que el estrés por CHEP causó la disminución significativa en los niveles plasmáticos de testosterona en las ratas estresadas. Es probable que este efecto del estrés por CHEP esté mediado tanto por opioides, específicamente β -endorfinas, como por el CRF. El efecto inhibitorio de ambos péptidos podría ser directo sobre el testículo, inhibiendo la síntesis del andrógeno, o bien inhibiendo la liberación de LHRH en el APOm, pues se ha demostrado experimentalmente que tanto el CRF como las β -endorfinas son capaces de inhibir al eje hipotálamo-hipófisis-gónada a nivel hipotalámico, disminuyendo el contenido de LHRH (Cicero, 1980; López-Calderón et al, 1991; Bidzinska et al, 1993), disminuyendo la liberación de LH en la hipófisis (Gilbeau y Smith, 1985; Almeida et al, 1988; Cicero et al, 1988; Barbarino et al, 1989; O'byrne et al, 1989; Norman y Smith, 1992), e inhibiendo la síntesis de testosterona en las células de Leydig (Adams et al, 1993; Duffau et al, 1993; Paice, et al, 1994; Kant y Saxena, 1995), lo que repercute en la disminución de testosterona en el plasma (Mosconi et al, 1994).

Estos efectos provocados por el CRF y los opiodes se revierten con la administración de antagonistas opiáceos (naloxona o naltrexona), incrementándose así los niveles hipotalámicos de LHRH (Cicero, 1980; López-Calderón et al, 1991; Bidzinska et al, 1993) y de LH y testosterona en el plasma (Cicero et al, 1979; Gilbeau y Smith, 1985; Norman y Smith, 1992; Aurich et al, 1994; Mosconi et al, 1994; Pedrón et

al, 1996). Los datos obtenidos en este trabajo concuerdan con lo anterior, ya que los efectos provocados sobre la conducta sexual y los niveles de testosterona plasmática en los machos sometidos a estrés por CHEP no se presentaron en los animales a los que se les administró previamente naltrexona. Estos resultados indican que los opioides endógenos, liberados por el estrés, son los responsables de inhibir la conducta sexual y disminuir los niveles de testosterona plasmática.

Estrés por inmersión en agua fría.

Las ratas sometidas a estrés por inmersión, aguda y crónica, mostraron los mayores efectos negativos sobre la conducta sexual masculina. Este estresor alteró el componente motivacional, el umbral eyaculatorio y el potencial copulatorio de la conducta sexual de los machos estresados desde la primera exposición al estresor. Asimismo, los machos sometidos a este estresor presentaron los mayores incrementos en los niveles plasmáticos de corticosterona, tanto al inicio de la fase luminosa como al inicio de la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad y los niveles plasmáticos de testosterona más bajos, en comparación con los machos sometidos a los otros estresores.

Estos datos sugieren que la inhibición de la conducta sexual masculina en las ratas expuestas al estrés por IMS podría deberse, en parte, a la disminución de los niveles de plasmáticos de testosterona y, cuyo decremento pudiera deberse al incremento en los niveles de corticosterona circulante. Esta suposición se basa en los resultados de varios autores, quienes han observado que la administración de corticosterona en anfibios inhibe la conducta de cortejo en los machos (Moore y Miller, 1984; Orchinik et

al, 1988). Hallazgos similares se han observado en las hembras de diferentes especies de mamíferos como las ratas (De Cantazaro, 1987; De Cantazaro y Gorzalka, 1980), las monas rehsus (Everitt y Herbert, 1971), las cerdas (Ford y Christensen, 1981) y las ovejas (Moberg, 1981), en las cuales la administración de corticosteroides suprarrenales inhibe la conducta sexual femenina. Estas evidencias apoyan la hipótesis de que la activación del sistema hipotálamo-hipófisis-suprarrenal es mediadora de los efectos negativos de algunos estresores sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, suprimiendo así la reproducción femenina y masculina (Hagino et al, 1969; Doerr et al, 1976; Vreeburg et al, 1984; Rivier et al, 1984; Rivier et al, 1986).

El antagonismo en los niveles de corticosterona y testosterona se ha observado en situaciones de estrés causado por el entrenamiento militar en los hombres (Opstad, 1994; Bernton et al, 1995), así como por el estrés social. En este último caso, se ha demostrado que los machos dominantes tienen niveles plasmáticos de corticosterona bajos y niveles plasmáticos de testosterona elevados; en los machos subordinados ocurre lo contrario (Eberhart et al, 1983; Monder et al, 1994). En concordancia con lo anterior, otros estudios han descrito que el estrés social en los monos y en las ratas impide copular a los machos subordinados (Keverne, 1979; Blanchard y Blanchard, 1990; Monder et al, 1994).

La supresión de testosterona y de la conducta sexual en los machos ha sido atribuida al incremento en los niveles de corticosteroides durante las situaciones de estrés (Christian et al, 1964; Nock et al, 1976; Bambino et al, 1981; Posner et al, 1981; Abbott, 1984; Taylor et al, 1987) o a la administración directa de corticosteroides (Moore et al, 1984). La disminución de testosterona por efecto de los glucocorticoides se debe a que estas hormonas suprarrenales inhiben la esteroidogénesis en las células

de Leydig, disminuyendo la concentración de las enzimas que participan en la síntesis de testosterona, como la 20,22 liasa, la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa y la 17,20 liasa (Orr et al, 1990; Orr et al, 1994; Hardy y Ganjam, 1997), así como la enzima que oxida a los corticosteroides, la 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (Monder, 1991; Monder et al, 1994; Hardy et al, 1997).

Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo no concuerdan con estas evidencias, pues la administración de diferentes dosis de corticosterona en los machos sexualmente expertos no estresados, durante 4 u 8 días consecutivos, no disminuyó los niveles plasmáticos de testosterona, ni modificó los parámetros copulatorios, aún cuando se observó un incremento dosis-dependiente en las concentraciones plasmáticas de corticosterona (alcanzando e incluso superando los niveles observados en las ratas expuestas a la IMS) inducidas por las diferentes dosis del corticosteroide exógeno. Esto podría deberse a que el efecto supresor de la corticosterona sobre la síntesis de testosterona en las situaciones de estrés podría estar potenciada por otros mediadores químicos del estrés, como los opioides endógenos.

En este sentido, los efectos del estrés por IMS sobre la conducta sexual masculina podrían explicarse por mecanismos centrales inhibitorios, los cuales involucran la liberación del CRF en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Este neuropéptido inhibe completamente la conducta sexual masculina, posiblemente a través de la liberación de β -endorfinas (Sirinathsinghji, 1987) que provienen de las neuronas POMC del núcleo arcuato y que proyectan hacia el APOm (Dorman et al, 1989). Los opioides a su vez podrían inhibir la conducta sexual masculina alterando el funcionamiento de los sistemas dopaminérgico y noradrenérgico (Pfaus y Gorzalka, 1987). La dopamina y la

norepinefrina hipotalámicas estimulan la conducta sexual en machos normales (Clark et al, 1984; 1985; Hull et al, 1993) y se sabe que disminuyen abruptamente por efecto de la IMS (Roth et al, 1982). Las β -endorfinas inhiben la liberación de norepinefrina en la amígdala, el hipocampo y en otras áreas cerebrales que reciben proyecciones del locus coeruleus, actuando a nivel presináptico, a través de los receptores μ , para inhibir los canales de Ca^{++} voltaje-dependientes, reduciendo así la cantidad de norepinefrina liberada (Mulder y Schoffelmer, 1993; Wonnacott et al, 1995). Los opioides también modulan la liberación de dopamina en el hipotálamo y la amígdala (Feldman et al, 1997). De esta forma, las β -endorfinas podrían inhibir la conducta sexual en los machos directamente en las neuronas del APOm, inhibiendo la liberación de norepinefrina y dopamina en esa región o bien interfiriendo con la transmisión de la información de los estímulos olfatorios desde la amígdala corticomedia hasta el APOm (Van Furth et al, 1995).

Los efectos del estrés por IMS en la conducta sexual de los machos podrían deberse a las modificaciones de los niveles de neurotransmisores cerebrales como la serotonina y/o el GABA, que son inhibidores de la conducta masculina en la rata (Ahlenius et al, 1980; Agmo y Paredes, 1985), del ratón (Naumenko et al, 1991) y de los anfibios machos (Boyd y Moore, 1990). En los ratones macho, el GABA bloquea el incremento de testosterona en el plasma por la presencia de una hembra receptiva (Naumenko y Serova, 1991). Como ya se mencionó, estos neurotransmisores inhibitorios son liberados en situaciones de estrés por choques eléctricos y por inmersión en agua (Malyszko et al, 1994) y por cautiverio (Boyd et al, 1990).

La disminución de los niveles plasmáticos de testosterona por efecto de la IMS también podría explicarse por la liberación de CRF. Este neuropéptido inhibe la secreción de LHRH a través de conexiones sinápticas directas con las neuronas que liberan LHRH en el APOm (MacLusky et al, 1988), o bien a través de estimular la liberación de las β -endorfinas de las neuronas POMC del núcleo arcuato hacia el APOm (Dornan et al, 1989).

Se sabe que la liberación de β -endorfinas hipofisarias se incrementa en respuesta al estrés por IMS (Lim y Funder, 1983; Dornan y Malsbury, 1989; Young, 1990). Incluso se ha observado que el incremento de las β -endorfinas en el plasma por efecto de ese estresor es mucho mayor al inicio de la fase oscura que en la fase luminosa del ciclo de luz/obscuridad (Lim y Funder, 1983). Estos opioides pueden actuar en todos los niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónada: en el hipotálamo, inhibiendo la liberación de LHRH; en la hipófisis, inhibiendo la liberación de LH; y en el testículo, inhibiendo la liberación de testosterona.

Los resultados de este trabajo muestran que la administración de naltrexona (antagonista de las β -endorfinas) previno los efectos de la IMS sobre los parámetros conductuales evaluados, así como sobre los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona, lo que indica que los efectos de este estresor sobre la conducta sexual y los niveles plasmáticos de testosterona y la corticosterona están mediados por las β -endorfinas, como lo han propuesto otros autores (Cicero et al, 1979; Cicero, 1980; Gilbeau y Smith, 1985; López-Calderón et al, 1991; Norman et al, 1992; Aurich et al, 1994; Mosconi et al, 1994; Pedrón et al, 1996).

La dosis efectiva (3 mg/Kg) para revertir el efecto de la IMS fue el doble de la que se utilizó en los machos sometidos al estrés por CHEP (1.5 mg/Kg). Estos datos sugieren que la IMS provoca una mayor liberación de β -endorfinas que el estrés por CHEP.

Estrés por inmovilización

Los efectos del estrés por IMOV durante 2 ó 6 horas sobre la CSM fueron poco relevantes. La IMOV-2 afectó el componente ejecutorio de la conducta sexual masculina, aumentando el número de montas en los machos expuestos a este estresor. Sin embargo, estos efectos se observaron solamente en los días 1, 4 y 20 de evaluación conductual; en consecuencia, la tasa de aciertos disminuyó sólo en los días 1 y 4 de estrés y la latencia de eyaculación (umbral eyaculatorio) se incrementó sólo el día 4.

La IMOV durante 6 horas afectó la conducta sexual masculina, pero solamente el primer día de exposición y los efectos fueron contradictorios, ya que por un lado, incrementó la latencia de monta, el número de montas y disminuyó la tasa de aciertos y por otro lado disminuyó la latencia de eyaculación y el intervalo interintromisión y aumentó la frecuencia eyaculatoria.

Los resultados obtenidos en las ratas sometidas a IMOV no coinciden con los de Menéndez-Patterson y colaboradores (1978), quienes reportaron que la IMOV por 3 horas alteró la conducta copulatoria masculina, aumentando las latencias de intromisión y de eyaculación, el número de montas y de intromisiones, así como el intervalo posteyaculatorio, además de disminuir la frecuencia eyaculatoria. Estas

diferencias en los resultados podrían deberse al tiempo de exposición a la IMOV (2 ó 6 h vs 3h), así como al tiempo transcurrido entre la aplicación del estresor y la evaluación de la conducta sexual masculina. En aquel trabajo, dicha evaluación se efectuó 5 horas después de aplicado el estresor durante 3 ó 6 días consecutivos; en este estudio la evaluación conductual fue una hora después de la aplicación del estresor, por las razones ya mencionadas.

Otros autores tampoco han encontrado modificaciones en los parámetros conductuales después de someter a las ratas a IMOV durante 30 minutos por 7 días consecutivos, aunque en ese estudio las pruebas conductuales se realizaron 24 horas después de la última sesión de IMOV (Albonetti y Farabollini, 1993).

Los efectos observados en algunos de los parámetros conductuales de las ratas expuestas a la IMOV-2 podrían deberse a posibles modificaciones en los niveles cerebrales de serotonina y norepinefrina, así como por incrementos en la liberación de β -endorfinas hipofisiarias e hipotalámicas. Se ha reportado que la IMOV durante diferentes períodos de tiempo (20, 60, 120, 180 min) tiene efectos dependientes de la duración del estresor. La exposición aguda a la IMOV estimula la liberación de β -endorfinas (Norman et al, 1992), incrementa la síntesis, la liberación y el metabolismo de la noradrenalina en la amígdala (Tanaka et al, 1981; Pacák et al, 1993), en el núcleo paraventricular (Pacák et al, 1992), así como en los núcleos ventromedial y supraóptico del hipotálamo (Kvetňanský et al, 1977), lo mismo que en el núcleo arcuato (Palkovits et al, 1975) y en otras regiones cerebrales (Tanaka et al, 1982). Por el contrario, la exposición repetida a IMOV disminuye la síntesis de catecolaminas y el recambio en las

neuronas noradrenérgicas en esas regiones cerebrales (Palkovits et al, 1975; Kvetňanský et al, 1977; Tanaka et al, 1982; 1991; Pacák et al, 1992; 1993).

Es importante mencionar que en todos esos estudios las ratas fueron inmovilizadas mediante técnicas que resultan ser mucho más estresantes que la utilizada en nuestro laboratorio. En aquellos estudios las ratas fueron inmovilizadas en posición pronada, sujetando sus cabezas y patas con asas de alambre o cinta adhesiva, o bien envolviendo al animal en mallas de alambre o pegando sus patas a una base de metal con cinta adhesiva. En este trabajo, las ratas se colocaron en un tubo de plexiglas, que no lastimaban a los animales y sus extremidades no se sujetan, lo que podría explicar en parte los leves efectos conductuales causados por la IMOV.

La IMOV-2 no alteró los niveles plasmáticos de testosterona ni de corticosterona cuando se aplicó en la fase oscura del ciclo. Con excepción del día 8, las concentraciones de corticosterona en el plasma de las ratas estresadas no fueron diferentes de los niveles cuantificados en los machos control al inicio de la fase oscura. Cuando el estrés se aplicó en la fase luminosa del ciclo, los niveles plasmáticos de corticosterona se incrementaron significativamente. Por una parte, estos datos sugieren que los machos expuestos a este estresor en la fase oscura del ciclo se adaptaron rápidamente a él, sin sufrir modificaciones significativas en los niveles plasmáticos de corticosterona. La adaptación a este estresor se ha demostrado en estudios en los que la exposición repetida a la IMOV, considerado un estresor homotípico, elimina la expresión del c-fos para el RNA mensajero, que es un indicador de la actividad neuronal alterada (Melia et al, 1994).

Por otra parte, el hecho de que los niveles plasmáticos de corticosterona se hayan incrementado significativamente sólo cuando la IMOV se aplicó en la fase luminosa del

ciclo, indica que la sensibilidad de la corteza suprarrenal varía circádicamente, como se ha demostrado en los seres humanos (Ferrari et al, 1982; Amsterdam et al, 1989; Horrocks et al, 1990), en los perros (Engeland et al, 1981) y en las ratas (Torrellas et al, 1981). Estos últimos observaron que la IMOV-2 provocó incremento significativo en los niveles plasmáticos de corticosterona, tanto en la mañana como en la tarde, respecto a los animales control y, que los incrementos en la corticosterona por efecto del estrés fueron mayores en la mañana que en la tarde. Nuestros datos concuerdan parcialmente con lo observado en aquel trabajo; las diferencias en cuanto al incremento de corticosterona en el plasma por efecto de la IMOV en la fase oscura del ciclo pueden deberse a que en aquel estudio las ratas se inmovilizaron mediante su fijación a redes de alambre y en posición pronada, procedimiento que puede ser más estresante que el utilizado en este trabajo.

Respecto al estrés por IMOV durante 6 horas, observamos que la conducta sexual masculina en los machos expuestos a este estresor no se inhibió, e incluso se facilitó ligeramente con la primera exposición al estresor. En estas ratas los niveles de testosterona en el plasma disminuyeron significativamente respecto al grupo control. En contraste, los niveles plasmáticos de corticosterona en estos machos estresados durante la fase oscura del ciclo fueron semejantes a los de las ratas control. Estos resultados difieren de lo reportado por otros autores, quienes han observado incremento en los niveles de corticosterona asociado con la disminución de testosterona plasmática en condiciones experimentales similares (Collu et al, 1979; Taché et al, 1980; Dodrakovová, et al, 1982; Collu et al, 1984). Las diferencias en los resultados obtenidos pueden deberse a que en aquellos trabajos el método de inmovilización consistía en la fijación de las patas del animal a una placa de metal con

cinta adhesiva, procedimiento que posiblemente provoca un estrés más severo que el utilizado en este trabajo.

Un aspecto importante es la fase del ciclo en la que se aplica el estresor, pues, la sensibilidad de la corteza suprarrenal al estrés y a la ACTH es mayor al inicio de la fase luminosa del ciclo. En los trabajos citados anteriormente, los animales se expusieron al estrés durante la fase luminosa del ciclo, lo que podría explicar el incremento en los niveles de corticosterona en el plasma de las ratas inmovilizadas.

En este trabajo, se observó que cuando las ratas se expusieron a la IMOV al inicio de la fase luminosa, cuando los niveles plasmáticos de corticosterona están en el mínimo (Critchlow, et al, 1963; Engeland et al, 1977; Dallman et al, 1978), los niveles del corticosteroide se incrementaron significativamente en comparación con los niveles de las ratas control, pero solamente con la exposición repetida al estresor (a partir del cuarto día de estrés). Lo mismo han observado otros autores, quienes estudiaron las variaciones circádicas en los niveles de corticosterona y encontraron que la exposición repetida al estresor elevó los niveles matutinos pero no los de la fase oscura, lo que conduce a la pérdida del ritmo circádico en la secreción de estas hormonas (Persengiev et al, 1991; Opstad, 1994; Ottenweller et al, 1994). Esto es importante porque en los estudios que reportan el aumento en los niveles de corticosterona en respuesta a la inmovilización, la aplicación del estresor así como la evaluación de sus efectos sobre los ejes neuroendócrinos se han hecho en la fase luminosa del ciclo (Collu et al, 1979; Taché et al, 1980; Collu et al, 1984; Armario et al, 1986; De Boer et al, 1989; González-Quijano, et al, 1990; Hanson et al, 1994), cuando los niveles de corticosterona son mínimos.

En resumen, nuestros resultados muestran que los estresores con diferentes características tienen diferentes efectos sobre la conducta sexual masculina y sobre las variaciones circádicas en los niveles plasmáticos de corticosterona en las ratas macho. La inmersión en agua fría tuvo los mayores efectos sobre los niveles de corticosterona. Este estresor fue capaz de estimular al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal en ambas etapas del ciclo de luz/obscuridad, al inicio de la fase luminosa (cuando los niveles plasmáticos de corticosterona en la rata se encuentran en su mínimo), como al inicio de la fase oscura (cuando los niveles de corticosterona están en el máximo valor). La inmovilización durante 2 y 6 horas no estimuló al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal al inicio de la fase oscura, sino solamente al inicio de la fase luminosa, cuando la actividad del eje es mínima, lo que disminuyó la ritmicidad de los niveles plasmáticos de corticosterona como ha sido descrito por otros autores (Otteweller et al, 1994). Estos resultados podrían explicarse a través de cambios en la sensibilidad de la glándula suprarrenal a la ACTH. Dicha sensibilidad está aumentada en la fase luminosa, en el caso de la rata (Dallman et al, 1978; Engeland et al, 1981; Torrellas et al, 1981; Ferrari, et al, 1982; Amsterdam et al, 1989; Horrocks et al, 1990). La amplitud de las variaciones circádicas de la corticosterona plasmática disminuyó por efecto de la IMOV como resultado de las diferencias en la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal durante el ciclo de luz/obscuridad. Resultados similares se han observado en los humanos sometidos a estrés físico prolongado durante cinco días de entrenamiento militar, provocándose la extinción de las variaciones circádicas del cortisol (Opstad, 1994).

Pesos de las glándulas suprarrenales.

Los CHEP y la IMS fueron los únicos estresores que provocaron aumento en los pesos de las glándulas suprarrenales cuando los animales se expusieron a ellos por 20 días consecutivos, en ambas fases del ciclo de luz/obscuridad. En las ratas sometidas a IMS, este incremento correlacionó con el aumento en los niveles plasmáticos de corticosterona observados en estos animales durante el tiempo de exposición al estresor, lo que implica un aumento en la actividad de síntesis y secreción de esa glándula durante el estrés. Estos datos son similares a otros datos que muestran incrementos en el peso de las suprarrenales de los animales sujetos a estrés social (Monder et al, 1994).

La hipertrofia suprarrenal observada en las ratas expuestas a CHEP no se relacionó con incrementos en los niveles plasmáticos de corticosterona. En estos animales observamos, sin embargo, el incremento en los niveles plasmáticos de un compuesto, que no pudimos identificar, pero que quizá sea otro corticosteroide, en los días 15 y 20 de estrés. El incremento en este compuesto podría deberse al incremento en la actividad suprarrenal en estos animales, lo que explicaría el aumento en el peso de estas glándulas.

Pesos testiculares.

Aún cuando los niveles plasmáticos de testosterona disminuyeron en la mayoría de los grupos sometidos a estrés, en ninguno de ellos se modificaron los pesos testiculares por efecto del estrés, posiblemente porque el tiempo que los machos fueron expuestos a éstos no fue suficiente. Estos datos coinciden con un estudio en el

que se evaluó el impacto del estrés social en las ratas macho (Monder et al, 1994). Aunado a esto, la presencia de tapones seminales (en los cuales se observaron abundantes espermatozoides móviles) en las hembras que copularon con los machos expuestos a los diferentes estresores, indica que el estrés no alteró la capacidad de los machos para eyacular. Los mecanismos nerviosos que regulan este proceso fisiológico no parece haberse alterado por el estrés. Por otra parte, el análisis histológico de los testículos de los machos estresados no reveló alteraciones en los diferentes estadios de los espermatozoides ni en los espermatozoides presentes en los túbulos seminíferos. Estos resultados indican que los estresores utilizados no afectan la espermatogénesis, como se ha dicho en algunos trabajos (Johnson et al, 1992). Debe considerarse, sin embargo, que el tiempo que las ratas fueron expuestas a los diferentes estresores no fue suficiente para causar tales efectos. Para ello sería necesario estresar a los machos durante 55 días al menos, considerando el tiempo que dura la espermatogénesis en la rata macho, que es de aproximadamente 53 días (Clermont y Harvey, 1965).

Pesos de las vesículas seminales.

El peso de las vesículas seminales disminuyó significativamente sólo en las ratas sometidas a IMS. Este efecto podría estar relacionado con la disminución de los niveles plasmáticos de testosterona que produce la exposición crónica a dicho estresor. En las ratas expuestas a los CHEP y a la IMOV-6 también disminuyó el peso de estas glándulas, aunque no de manera significativa. Esto puede deberse a que la disminución en los niveles de testosterona en esas ratas fue menor que en el grupo de IMS.

Pesos corporales.

El estrés afectó la ganancia de peso corporal en las ratas expuestas al estrés y los efectos fueron también dependientes del estresor. Cabe decir que en ningún caso se observó pérdida de peso, sino sólo menor ganancia de peso corporal en relación al grupo control. El efecto del estrés en el peso corporal podría estar relacionado con la liberación central de CRF, pues se ha demostrado que esta hormona suprime, o al menos disminuye la ingesta de alimentos (Demura, 1994; Nemeroff, 1988). El hecho de que se haya observado menor ganancia en el peso corporal en las ratas estresadas por IMS durante la fase luminosa del ciclo de luz/obscuridad podría deberse a una mayor liberación de esta hormona en la fase luminosa.

En la figura 34 se esquematizan las estructuras y mediadores químicos que podrían estar involucrados en los efectos del estrés sobre la conducta sexual masculina, la testosterona y la corticosterona.

CONCLUSIONES

1. Los efectos causados por el estrés sobre la conducta sexual masculina son dependientes del tipo de estresor utilizado.
2. Las modificaciones en los niveles plasmáticos de corticosterona en respuesta al estrés también dependen de las características del estresor. La ciclicidad disminuye en respuesta a la IMOV pero no en respuesta a la IMS, que fue el único capaz de estimular la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-glándula suprarrenal en ambas

fases del ciclo de luz/obscuridad. Los CHEP, con las características empleadas en este estudio, no tienen efecto sobre la corticosterona.

3. Los efectos del estrés crónico por IMS sobre la conducta sexual masculina pueden deberse en parte a la supresión de testosterona por efecto de la corticosterona, así como por la liberación de β -endorfinas, sin descartar otros mecanismos centrales como cambios en los sistemas de neurotransmisión noradrenérgica, dopaminérgica, serotoninérgica y GABAérgica.
4. Los efectos de los CHEP e IMOV sobre la conducta sexual masculina no se deben a cambios en los niveles de corticosterona, sino a mecanismos centrales que pueden involucrar al CRF y a las β -endorfinas, sin dejar al margen a otros neurotransmisores (noradrenalina, dopamina, serotonina y GABA).
5. Los efectos causados por el estrés sobre el peso de las glándulas suprarrenales son evidentes sólo con la exposición repetida a los CHEP y la IMS.
6. Los estresores utilizados (IMS, CHEP, IMOV2 e IMV6) no son capaces de inducir atrofia testicular ni alteraciones aparentes en la espermatogénesis.
7. Estos estresores no causan pérdida del peso corporal, solamente disminución en la ganancia del mismo.

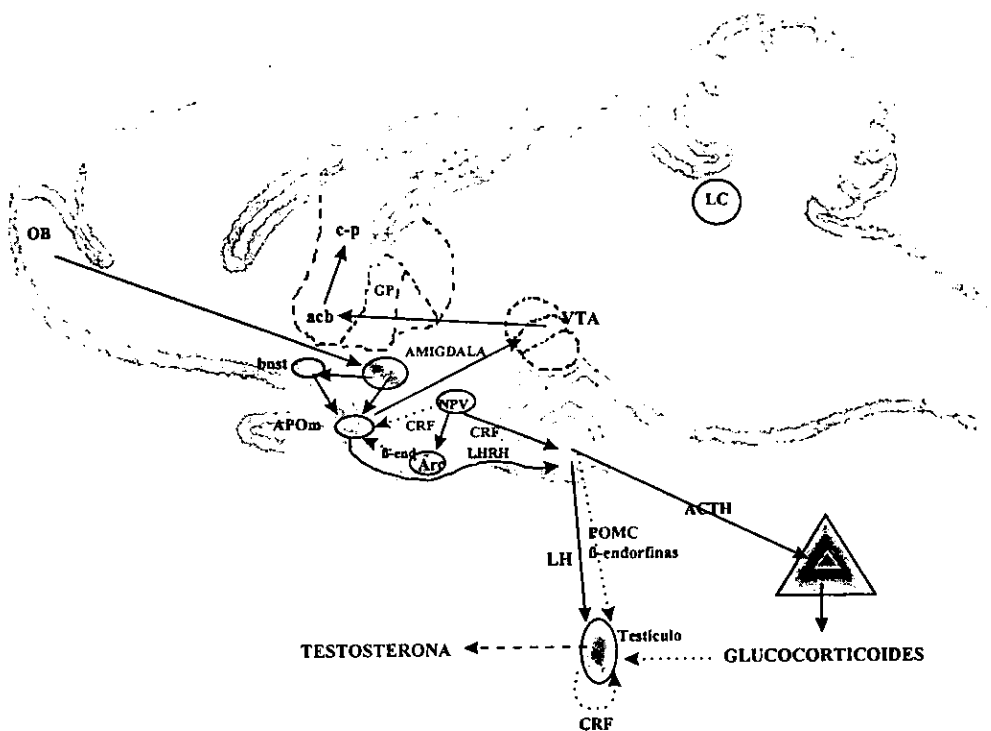


Figura 34. Diferentes vías que podrían estar involucradas en los efectos del estrés en la conducta sexual masculina y en los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona. Las neuronas CRF del núcleo paraventricular estimulan a las neuronas POMC del núcleo arcuato en el hipotálamo. Éstas a su vez podrían inhibir la conducta sexual a través de la liberación de β -endorfinas al APOm para inhibir la liberación de dopamina y norepinefrina. Las β -endorfinas también pueden inhibir, a nivel central, la producción de testosterona en las células de Leydig, bloqueando la liberación de LHRH en el APOm o actuando directamente en el testículo. El CRF en las células de Leydig podría contribuir a este efecto. OB=bulbo olfatorio; LC=locus coeruleus; c-p=putamen-caudado; acb=núcleo accumbens; GP= globo pálido; VTA=núcleo tegmental ventral; bnst=núcleo basal de la estria terminal; APOm=área preóptica media; NPV=núcleo paraventricular; Arc=núcleo arcuato; CRF=factor liberador de la corticotropina; LHRH=hormona liberadora de las gonadotropinas; POMC=proopiomelanocortina; LH=hormona luteinizante; ACTH=hormona adrenocorticotrófica.

REFERENCIAS

- ◇ Abbot, D.H. (1984). Behavioral and physiological suppression of fertility in subordinate marmoset monkeys. **Am. J. Primatol.** **6**:169-186.
- ◇ Addams ML, Sewing B, Forman JB, Meyer ER, Cicero TJ. (1993) Opioid-induced suppression of rat testicular function. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **266**(1):323-328.
- ◇ Agmo A. (1976). Sexual behaviour following castration in experienced and inexperienced male rabbits. **Z. Tierpsychol.** **40**:390-395.
- ◇ Agmo A., Paredes R. (1985). GABAergic drugs and sexual behaviour in the male rat. **Eur. J. Pharmacol.** **112**:371-378
- ◇ Ahlenius S., Larsson K., Svensson L. (1980). Further evidence for an inhibitor role of central 5-HT in male rat sexual behavior. **Psychopharmacology (Berl)** **68**:217-220.
- ◇ Ajika K., Kabra S., Fawcett C., McCann S. (1972). The effect of stress and Nembutal on plasma gonadotropins and prolactin in ovariectomized rats. **Endocrinology** **90**:707-715.
- ◇ Akana S., Cascio C., Du J., Levin N., Dallman M. (1986). Reset of feedback in the adrenocortical system: An apparent shift in sensitivity of adrenocorticotropin to inhibition by corticosterone between morning and evening. **Endocrinology** **119**:2325-2332.
- ◇ Akil H., Shiomi H., Matthews H. (1985). Induction of the intermediate pituitary by stress: Synthesis and release of a nonopioid form of β -endorphin. **Science** **227**:424-426.
- ◇ Albonetti M.E., Farabollini F. (1993). Effects of single and repeated restraint on the social behavior of male rats. **Physiol. Behav.** **53**:937-942.
- ◇ Almeida OF, Nikolarakis KE, Herz A. (1988) Evidence for the involvement of endogenous opioids in the inhibition of luteinizing hormone by corticotropin-releasing factor. **Endocrinology** **122**(3):1034-1041.
- ◇ Amsterdam J., Maislin G., Berwisch N., Phillips J., Winokur A. (1989) Enhanced adrenocortical sensitivity to submaximal doses of cosyntropin (alpha 1-24-corticotropin) in depressed patients. **Arch. Gen. Psychiatry.** **46**:550-554
- ◇ Armario A., Castellanos J. (1984). Effect of acute and chronic stress on testosterone secretion in male rats. **J. Endocrinol. Invest.** **7**:659-661.

- ◇ Armario A., López-Calderón A., Jolin T., Balasch J. (1986). Response of anterior pituitary hormones to chronic stress. The specificity of adaptation. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 10:245-250.
- ◇ Armstrong D. (1986). Environmental stress and ovarian function. **Biol. Reprod.** 34:29-39.
- ◇ Atcheson, J.B. and Tyler F.H. (1975). Circadian rhythm: Man and animals. In: R.O. Greep and E.B. Astwood (Eds.). **Handbook of Physiology, section 7, vol. VI.** American Physiological Society. Washington, pp. 127-134.
- ◇ Aurich C, Sieme H, Hoppe H, Schlote S. (1994) Involvement of endogenous opioids in the regulation of LH and testosterone release in the male horse. **J. Reprod. Fertil.** 102(2):327-336
- ◇ Ax A.F. (1953). The physiological differentiation between fear and anger in humans. **Psychosom. Med.** 15:433-442.
- ◇ Axelrod J., Raisine T. (1984). Stress Hormones: Their interaction and regulation. **Science** 224:452-459.
- ◇ Bambino H.T., Hsueh A.J., (1981). Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis *in vivo* and *in vitro*. **Endocrinology.** 108:2142-2148.
- ◇ Barbarino A., De Marinis L., Tofani A., Della Casa S., D'Amico C., Mancini A., Corsello S., Sciuto R., Barini A. (1989). Corticotropin-releasing hormone inhibition of gonadotropin release and the effect of opioid blockade **J.Clin. Endocrinol. Metab.** 68:523-528.
- ◇ Barfield R. and Sachs B. (1968). Sexual behavior stimulation by painful electrical shock to skin in male rats. **Science** 161:192- 395.
- ◇ Battaini F., Del Vesco R., Govoni S., Lopez C., Trabucchi M. (1990). Stressful conditions and brain transducing mechanisms during aging. In: Nappi G. (ed). **Stress and the aging brain.** Raven Press, Ltd., New York. pp.83-91.
- ◇ Beach F.A., Jordan L. (1956). Sexual exhaustion and recovery in the male rat. **Q. J. Exp. Psychol.** 8: 121-133.
- ◇ Bernard C. (1878). **Les fenomenes de la vie.** Vol I. Libraire J-B Bailliere et Fils; Paris. 879 pp.

- ◇ Berkenbosch F., Tilders F.J., Vermes Y. (1983) Beta-adrenoceptor activation mediates stress-induced secretion of beta-endorphin-related peptides from the intermediate but not anterior pituitary. **Nature** 305:237-239.
- ◇ Bernton E., Hoover D., Halloway R., Popo K. (1995). Adaptation to chronic stress in military trainees. Adrenal androgens, testosterone, glucocorticoids, IGF-I and immune function. **Ann. NY. Acad. Sci.** 774: 217-231.
- ◇ Berridge C.W., Dunn A.J. (1989). Restraint-stress induced changes in exploratory behavior appear to be mediated by norepinephrine-stimulated release of CRF. **J. Neurosci.** 9:3513-3521.
- ◇ Beyer C., Contreras J., Morali G., Larsson K. (1981). Effects of castration and sex steroid treatment on the motor copulatory pattern of the rat. **Physiol. Behav.** 27:727-730.
- ◇ Beyer C., Larsson K., Pérez-Palacios G., Morali G. (1973). Androgen structure and male sexual behavior in the castrated male rat. **Horm. Behav.** 4:99-108
- ◇ Beyer C., Morali G., Naftolin F., Larsson K., Pérez-Palacios G. (1976). Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen induced sexual behavior in castrated male rats. **Horm. Behav.** 7:353-363.
- ◇ Bidzinska B., Petraglia F., Angioni S., Genazzani A.D., risuolo M., Ficarra G., Gallinelli A., Trentini G.P., Genazzani A.R. (1993). Effect of different chronic intermittent stressors and acetyl-L-carnitine on hypothalamic beta-endorphin and GnRH and on plasma testosterone levels in male rats. **Neuroendocrinology** 57:985-990.
- ◇ Bitran D., Hull E. (1987). Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 11:365-389.
- ◇ Blanchard D.C., Blanchard R.J. (1990). Behavioral correlates of chronic dominance-subordination relationships of male rats in a seminatural situation. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 14:455-462.
- ◇ Bloom R.E., Battenberg E.L., Rivier J., Vale W. (1982). Corticotropin releasing factor (CRF): Immunoreactive neurones and fibers in rat hypothalamus. **Regul. Pept.** 4:43-48.
- ◇ Bohus B., De Kloet E., Veldhuis H. (1983). Adrenal steroids and behavioral adaptation: Relationships to brain corticoid receptors. In: Ganten R., Pfaff D. (eds). **Progress in Neuroendocrinology**. vol. 2. Springer-Verlag; Berlin, pp. 107-125.

- ◇ Boitani C., Chen C., Margioris A., Gerendai Y., Morris P., Bardin C. (1986). Pro-opiomelanocortin-derived peptides in the testis: Evidence for a possible role in Leydig and Sertoli cell function. **Med. Biol.** **63**:251-258.
- ◇ Booth A., Shelley G., Mazur A., Tharp G., Kittok R. (1989). Testosterone, and winning and losing in human competition. **Horm. Behav.** **23**:556-571.
- ◇ Borg KE, Esbenshade KL, Johnson BH, Lunstra DD, Ford JJ. (1992) Effects of sexual experience, season, and mating stimuli on endocrine concentrations in the adult ram. **Horm. Behav.** **26**(1):87-109.
- ◇ Boyd S.K., Moore F.L. (1990). Evidence for GABA involvement in stress-induced inhibition of male amphibian sexual behavior. **Horm. Behav.** **24**:128-138.
- ◇ Britton DR, Koob GF, Rivier J, Vale W. (1982) Intraventricular corticotropin-releasing factor enhances behavioral effects of novelty. **Life Sci.** **31**:363-367.
- ◇ Bronson FH, Desjardins C.(1982) Endocrine responses to sexual arousal in male mice. **Endocrinology** **111**(4):1286-1291.
- ◇ Caggiula A. (1972). Shock-elicited copulation and aggression in male rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **80**:393-397.
- ◇ Calogero A., Gallucci W., Gold P., Chrousos G. (1988). Multiple feed-back regulatory loops upon rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion. **J. Clin. Invest.** **82**:767-774.
- ◇ Cannon W.B. (1929). The wisdom of the body . **Physiol. Rev.****9**:399-431.
- ◇ Charpenet G., Taché Y., Bernier M., Ducharme J., Collu R. (1982). Stress-induced testicular hyposensitivity to gonadotropin in rats. Role of the pituitary gland. **Biol. Reprod.** **27**:6116-623.
- ◇ Christian J.J., Davis D.E. (1964). Endocrines, behavior and populations. **Science** **146**:1550-1560.
- ◇ Chrousos G.P., Laue L., Nieman L., Kawai S., Udelsman R., Brandon D., Loriaux D. (1988). Glucocorticoids and glucocorticoids antagonists: Lessons from RU486. **Kidney Int.** **34 (Suppl 26)**:18-23.
- ◇ Cicero T. (1980) Effects of exogenous and endogenous opiates on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the male. **Fed. Proc.** **39**(8): 2551-2554.

- ◇ Cicero TJ, Meyer ER, Miller BT, Bell RO. (1988). Age-related differences in the sensitivity of serum luteinizing hormone to prototypic mu, kappa and delta opiate agonists and antagonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **246**(1):14-20.
- ◇ Cicero TJ, Schainker BA, Meyer ER. (1979) Endogenous opioids participate in the regulation of the hypothalamus-pituitary-luteinizing hormone axis and testosterone's negative feedback control of luteinizing hormone. *Endocrinology* **104**(5):1286-1291.
- ◇ Clark J.T., Smith E.R., Davidson J.M. (1984). Enhancement of sexual motivation in male rats by yohimbine. *Science* **225**:357-364
- ◇ Clark J.T., Smith E.R., Davidson J.M. (1985). Testosterone is not required for the enhancement of sexual motivation by yohimbine. *Physiol. Behav.* **35**:517-521.
- ◇ Clermont Y., Harvey S.C. (1965). Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in normal, hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treated albino rats. *Endocrinology* **76**:80-89.
- ◇ Cohen R, Cohen M, McLellan C. (1986) Foot shock induces time and region specific adrenergic receptor changes in rat brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **24**:1587-1592.
- ◇ Colborn D.R., Thompson D.L., Capehart J.J., White K.L. (1991). Responses of cortisol and prolactin to sexual excitement and stress in stallions and geldings. *J. Anim. Sci.* **69**:2556-2562.
- ◇ Collu R., Gibb W., Ducharme G.R. (1984a). Role of catecholamines in the inhibitory effect of immobilization stress on testosterone secretion in rats. *Biol. Reprod.* **30**:416-422.
- ◇ Collu R., Gibb W., Ducharme G.R. (1984b). Effects of stress on the gonadal function. *J. Endocrinol. Invest.* **7**:529-537.
- ◇ Collu R., Taché Y., Ducharme J. (1979). Hormonal modifications induced by chronic stress in rats. *J. Steroid Biochem.* **11**:989-1000.
- ◇ Craigen W., Bronson F.H. (1982). Deterioration of the capacity for sexual arousal in aged male mice. *Biol. Reprod.* **26**:869-874.
- ◇ Critchlow V., Liebelt R.A., Bar-Sela M., Mountcastle W., Lipscomb H.S. (1963) Sex difference in resting pituitary-adrenal function in the rat. *Am. J. Physiol.* **205**:807-815.

- ◇ Dallman M.F., Engeland W.C., Rose J.C. Wilkinson C.W., Shinsako J., Siedenburg F. (1978). Nycthemeral rhythm in adrenal responsiveness to ACTH. **Am. J. Physiol.** **223**:402-405.
- ◇ Davidson J. (1966). Activation of the male rat sexual behavior by intracerebral implantation of androgen. **Endocrinology** **79**:783-794.
- ◇ Davidson J.M., Stefanick M.L., Sachs B.D., Smith E.R. (1978). Role of an antiandrogen in sexual reflexes of the male rat. **Physiol. Behav.** **21**:141-146.
- ◇ De Boer S., Koopmans S., Slangen J., Van Der Gugten J. (1989). Effects of fasting on plasma catecholamine, corticosterone and glucose concentrations under basal and stress conditions in individual rats. **Physiol. Behav.** **45**:989-994.
- ◇ De Cantazaro D. (1987) Alteration of estrogen-induced lordosis through central administration of corticosterone adrenalectomized rat. **Neuroendocrinology** **46**(6):468-474.
- ◇ De Cantazaro D., Gorzalka B.B. (1980). Effects of dexamethasone, corticosterone and ACTH in lordosis in ovariectomized and adrenalectomized rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **12**:201-206.
- ◇ De Kloet E., Joëls M. (1991). Brain corticosteroid receptors and neurotransmission. In: Fuxe K., Agnati L. (Eds). **Volume transmission in the brain: Novel mechanisms for neural transmission**. Raven Press. New York. pp.213-225.
- ◇ Delbende C., Delaure C., Lefebvre H., Tranchand D., Szafarczyk A., Mocaër E., Kamoun A., Jégou S., Vaudry H. (1992). Glucocorticoids, transmitters and stress. **Brit. J. Psy.** **160**:(suppl. 15): 24-34.
- ◇ Demura H. (1994). Stress and hormone. **Folia Endocrinologica Japonica** **70**:479-488.
- ◇ De Souza E.B., Van Loon G.R. (1989). Rate-sensitive glucocorticoid feedback inhibition of adrenocorticotropin and β -endorphin/ β -lipotropin secretion in rats. **Endocrinology** **125**:2927-2934.
- ◇ De Wied D. (1980). Pituitary-adrenal system hormones and behavior. In: Selye,H. (Ed.) **Selye's guide to stress research**. Vol 1. Van Nostrand Reinhold. New York, pp. 252-279.
- ◇ Dobráková M., Kvetňanský R., Torda T., Murgas C. (1982). Changes of plasma and adrenal catecholamines and corticosterone in stressed rats with septal lesions. **Physiol. Behav.** **29**:41-45.

- ◇ Doerr P., Pirke K.M. (1976). Cortisol-induced suppression of plasma testosterone in normal adult males. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** **43**:622-629.
- ◇ Dornan W., Malsbury Ch. (1989). Neuropeptides and male sexual behavior. **Neurosci. Biobehav. Rev.** **13**:1-15.
- ◇ Dufau ML, Tinajero JC, Fabbri A (1993). Corticotropin-releasing factor: an antireproductive hormone of the testis. **FASEBS** **7**(2):299-307
- ◇ Eberhart JA, Keverne EB, Meller RE. (1983) Social influences on circulating levels of cortisol and prolactin in male talpoin monkeys. **Physiol. Behav.** **30**(3):361-369.
- ◇ Elias A., Wilson A., Pandian M., Chune G., Utsumi A., Kayaleh R., Stone S. (1991). Corticotropin releasing hormone and gonadotropin secretion in physically active males after acute exercise. **Eur. J. Appl. Physiol.** **62**:171-174.
- ◇ Emeric-Sauval E. (1986) Corticotropin-releasing factor (CRF). A review. **Psychoneuroendocrinology** **11**(3):277-294.
- ◇ Engeland W., Byrnes G., Presnel K., Gann D. (1981). Adrenocortical sensitivity to adrenocorticotropin (ACTH) in awake dogs changes as a function of the time of observation and after hemorrhage independently of changes in ACTH. **Endocrinology** **108**:2149-2153.
- ◇ Engeland W.C., Shinsako J., Winget C.M., Vermikos-Danellis J., M.F. Dallman. (1977). Circadian patterns of stress-induced ACTH secretion are modified by corticosterone responses. **Endocrinology** **100**:138-147.
- ◇ Euker J., Meites J., Reigle G. (1975). Effects of acute stress on serum LH and prolactin in intact, castrate and dexamethasone-treated male rats. **Endocrinology** **96**:85-92.
- ◇ Evans C.J., Erdelyi E., Weber E., Barchas J.D. (1983). Identification of pro-opiomelanocortin-derived peptides in the human adrenal medulla. **Science** **221**:957-960.
- ◇ Everitt B.J., Herbert J. (1971). The effects of dexamethasone and androgens on sexual receptivity of female rhesus monkeys. **J. Endocrinol.** **51**:575-588.
- ◇ Fanselow M.S., Bolles R.C. (1979). Naloxone and shock-elicited freezing in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **93**:736-744.
- ◇ Farabolini F., Lupo Di Prisco C., Carli G. (1978). Changes plasma testosterone and in its hypothalamic metabolism following immobility responses in rabbits. **Physiol. Behav.** **20**:613-618.

- ◇ Feldman R, Meyer J, Quenzer L. (1997). **Principles of Neuropsychopharmacology**. Sinauer Associates Inc. Publishers. Saunderland, Massachusetts, pp.495-548.
- ◇ Ferrari E., Bossolo P., Carnevale Schianca G., Solerte S., Fioravanti M., Nascimbene M. (1982). Adrenocortical responsiveness to the synthetic ACTH 1-17 analogue given at different circadian stages. **Cronobiologia** **9**:133-141
- ◇ File S.E. (1978). ACTH but not corticosterone impairs habituation and reduces exploration. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **9**:161-166.
- ◇ Fisher A.E. (1956). Maternal and sexual behavior induced by intracranial chemical stimulation. **Science** **124**:228-229.
- ◇ Ford J.J., Christenson R.K. (1981). Glucocorticoid inhibition of estrus in ovariectomized pigs: Relationship to progesterone action. **Horm. Behav.** **15**:427-435.
- ◇ Foote SL, Aston-Jones G, Bloom FE. (1980) Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **77**:3033-3037
- ◇ Frajese G., Lazzari R., Magnani A., Moretti C., Sforza V., Nerozzi D. (1990). Neurotransmitter, opiodergic system, steroid-hormone interaction and involvement in the replacement therapy of sexual disorders. **J. Steroid Biochem. Molec. Biol.** **37**:411-419.
- ◇ Frankel A., Ryan E. (1981). Testicular innervation is necessary for the response of plasma testosterone levels to acute stress. **Biol. Reprod.** **24**:491-495.
- ◇ Gilbeau PM, Smith CG (1985). Naloxone reversal of stress-induced reproductive effects in the male rhesus monkey. **Neuropeptides** **5**:335-338.
- ◇ Gill G. (1972). Mechanism of ACTH action. **Metabolism** **21**:571-598.
- ◇ Giraud P., Eiden L., Castañas E., Conte-Devolx B., Boudouresque F., Jaquet P., Oliver C. (1982). Opiate peptides of the adrenal medulla. **Nouv. Presse Med.** **11**:1867-1871.
- ◇ Gispen W.H., van der Poel A., van Wimersma Greidanus T.B. (1973). Pituitary adrenal influences on behavior. Responses to test situations with or without electric foot shock. **Physiol. Behav.** **10**:345-350.
- ◇ Glavin G. (1985). Stress and brain noradrenalin: A review. **Neurosci. Biobehav. Rev.** **9**:233-243.

- ◇ Gold P., Goodwin F., Chrousos G. (1988a). Clinical and biochemical manifestations of depression: Relation to the neurobiology of stress. (first of two parts). **N. Engl. J. Med.** **319**:348-353.
- ◇ Gold P., Goodwin F., Chrousos G. (1988b). Clinical and biochemical manifestations of depression: Relation to the neurobiology of stress. (second of two parts). **N. Engl. J. Med.** **319**:413-420.
- ◇ Gold PW, Gwirtsman H, Argerinos PC, Nieman LK, Galluci WT, Kaye W, Jimerson D, Ebert M, Rittmaster R, Loriaux DL, Chrousos GP. (1986) Abnormal hypothalamic-pituitary-adrenal function in anorexia nervosa: Pathophysiologic mechanisms in underweight and weight-corrected patients. **N. Engl. J. Med.** **314**:1335-1342.
- ◇ Goldfoot D. and Baum M. (1972). Initiation of mating behavior in developing male rats following peripheral electric shock. **Physiol. Behav.** **8**:857-863.
- ◇ González-Quijano M., Ariznavarreta C., Martín A., Tresguerres J., López-Calderón A. (1991). Naltrexone does not reverse the inhibitory effect of chronic restraint on gonadotropin secretion in the intact male rat. **Neuroendocrinology** **54**:447-453.
- ◇ Gray G., Smith E., Damassa D., Ehrenkranz J., Davidson, J. (1978). Neuroendocrine mechanisms mediating the suppression of circulating testosterone levels associated with chronic stress in male rats. **Neuroendocrinology** **25**:247-256.
- ◇ Greenberg A. (1984). Effects of opiates on male orgasm. **Med. Aspects Hum. Sexuality** **18**:207-210.
- ◇ Guillemín R., Rosenberg B. (1955). Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: A study with combined with tissue cultures. **Endocrinology** **57**:599-607.
- ◇ Hagino N., Watanabe M., Goldzieher J.W. (1969). Inhibition by adrenocorticotrophin and gonadotrophin-induced ovulation in immature female rats. **Endocrinology** **84**:308-314.
- ◇ Hanson E.S., Bradbury M.J., Akana S.F., Scribner K.S., Strack A.M. (1994). The diurnal rhythm in adrenocorticotropin responses to restraint in adrenalectomized rats is determined by caloric intake. **Endocrinology** **134**:2214-2220.
- ◇ Hardy M. P., Ganjam V.K. (1997). Stress, 11 β -HSD, and Leydig cell function. **J. Androl.** **18**:475-479.
- ◇ Hart B.L., Wallach S.J., Melese-D'Hospital P.Y. (1983). Differences in responsiveness to testosterone of penile reflexes and copulatory behavior of male rats. **Horm. Behav.** **17**:274-283.

- ◇ Haynes R., Berthet L. (1957). Studies on the mechanism of action of the adrenocorticotrophic hormone. *J. Biol. Chem.* **225**: 115-127.
- ◇ Hellerhammer D.H., Hubert W., Schurmeyer T. (1985). Changes in saliva testosterone after psychological stimulation in men. *Psychoneuroendocrinology* **10**:77-81.
- ◇ Hillegaart V., Ahlenius S., Larsson K. (1991). Region-selective inhibition of male rat sexual behavior and motor performance by localized forebrain 5-HT injections: a comparison with effects produced by 8-OH-DPAT. *Behav. Brain Res.* **42**:169-180.
- ◇ Horrocks P., Jones A., Ratcliffe W., Holder G., White A., Holder R., Ratcliffe J., London D. (1990). Patterns of ACTH and cortisol pulsatility over twenty-four hours in normal males and females. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* **32**:127-134.
- ◇ Hughes A.M., Everitt B.J., Herbert J. (1987) Selective effects of beta-endorphin infused into the hypothalamus, preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis on the sexual and ingestive behavior in male rats. *Neuroscience* **23**:1063-1073.
- ◇ Hughes A.M., Everitt B.J., Herbert J. (1989). The effects of simultaneous or separate infusions of some pro-opiomelanocortin derived peptides (beta-endorphin, melanocyte stimulating hormone, and corticotropin-like intermediate polipeptide) and their acetylated derivatives upon sexual and ingestive behavior of male rats. *Neuroscience* **27**:689-711.
- ◇ Hull E.M., Eaton R.C., Moses J., Lorrain D. (1993). Copulation increases dopamine activity in the medial preoptic area of male rats. *Life Sci.* **52**:935-940.
- ◇ Imori K., Tanaka M., Kohno Y., Ida Y., Nakagawa R., Hoaki Y., Tsuda A., Nagasaki N. (1982). Psychological stress enhances noradrenaline turnover in specific brain regions in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **16**:637-640.
- ◇ Ishikawa M., Hara Ch., Ohdo S., Ogawa N. (1992). Plasma corticosterone response of rats with sociopsychological stress in the communication box. *Physiol. Behav.* **52**:475-480.
- ◇ Jaffe J.H., Martin W.R. (1980). Opioid analgesics and antagonist. In: A. Goodman Gilman, L.S. Goodman and A. Gilman (Eds.). *Pharmacological basis of therapeutics*. MacMillan, New York. pp. 501.
- ◇ Johnson D.N., Diamond M. (1969). Yohimbine and sexual stimulation in the male rat. *Physiol. Behav.* **4**:411-413.
- ◇ Johnson E., Kamilaris T., Chrousos G., Gold P. (1992). Mechanisms of stress: A dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **16**:115-130.

- ◇ Johnson B., Welsh T., Juniewicz P. (1982). Suppression of luteinizing hormone and testosterone secretion in bulls following adrenocorticotropin hormone treatment **Biol. Reprod.** **26**:305-310.
- ◇ Kant PA, Saxena RN (1995) Effect of Beta-endorphin and naloxone on rat testicular steroidogenesis. **Indian J. Exp Biol.** **33**(3):165-168.
- ◇ Keller-Wood M., Dallman M. (1984). Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. **Endocr. Rev.** **5**:1-24.
- ◇ Kennett G., Joseph M.H. (1981). The functional importance of increased brain tryptophan in the serotonergic response to restraint stress. **Neuropharmacology** **20**:39-43.
- ◇ Keve ME (1979). Sexual and aggressive behavior in social groups of talapoin monkeys. In: Porter R., Whelan J. (eds.). **Sex, hormones and behavior. Ciba Found. Symp.** **63**. pp.271-286.
- ◇ Kime K.E., Vinson G.P., Major P.W., Kilpatrick R. (1980). Adrenal-gonadal relationships. In: Chestre-Jones Y., Henderson I.W. (Eds). **General comparative and clinical endocrinology of the adrenal cortex**. Vol. III. Academic Press, New York. pp. 183-264.
- ◇ Koob G.F., Heinrichs S.C., Menzaghi F., Pich E.M., Britton K.T. (1994). Corticotropin releasing factor, stress and behavior. **Semin. Neurosci.** **6**:221-229.
- ◇ Kopin I., Eisenhofer G., Goldstein D. (1986). Sympathoadrenal medullary system and stress. In: Chrousos G., Loriaux D., Gold P. (Eds). **Mechanisms of physical and emotional stress**. vol 245. Advances in experimental medicine and biology. New York. Plenum Press: 11-23.
- ◇ Krieger D, (1982) **Cushing's syndrome Vol.22. Monographs in endocrinology.** Springer-Verlag. Berlin. 137 pp.
- ◇ Krulich L., Hefco E., Illner P., Read C. (1974). The effects of acute stress on the secretion of LH, FSH, prolactin and GH in the normal male rat, with comments on their statistical evaluation. **Neuroendocrinology** **16**:293-311.
- ◇ Kvetňanský R, Nemeth S, Vegas M, Oprsalova Z, Jurvicova J. (1984). Plasma catecholamines in rats during adaptation to intermittent exposure to different stress. In: Usdin E, Kvetňanský R, Axelrod J. (Eds). **Stress. The role of catecholamines and other neurotransmitters.** New York. Gordon and Breach. pp.537-562.

- ◇ Kvetňanský R., Palkovits M., Mitro A., Torda T., Mikulaj L. (1977). Catecholamines in individual hypothalamic nuclei of acutely and repeatedly stressed rats. **Neuroendocrinology** 23:257-267.
- ◇ Kvetňanský R., Tilders F.J., van Zoest I.D., Dobrakovova M., Berkenbosh F., Culman J., Zeman P., Smelij P.G. (1987). Sympathoadrenal activity facilitates β -endorphin and α -MSH secretion but does not potentiate ACTH secretion during immobilization stress. **Neuroendocrinology** 45:318-324.
- ◇ Larsson K. (1963). Non-specific stimulation and sexual behaviour in the male rat. **Behaviour** 20:110-114.
- ◇ Larsson K. (1978). Experimental factors in the development of sexual behavior. In: Hutchinson J. (Ed.). **Biological determinants of sexual behavior**. John Wiley and Sons. New York. pp. 55-86.
- ◇ Lennox R.H., Kant G.J., Sessions G.R., Oennington L.L., Mougey E.H., Meyerhoff J.L. (1980). Specific hormonal and neurochemical responses to different stressors. **Neuroendocrinology** 30:300-308.
- ◇ Leslie R.D., Prescott R.W., Kendall-Taylor P., Cook D., Weightman D., Ratcliffe J., Ingram M.C. (1985). Opiate receptor blockade and diurnal pituitary and adrenal hormone levels. **Horm. Metab. Res.** 17:86-89.
- ◇ Lesniewska B., Miskowiak B., Nowak M., Malendowicz L. (1990). Sex differences in adrenocortical structure and function. XXVII. The effect of ether stress on ACTH and corticosterone in intact, gonadectomized, and testosterone- or estradiol-replaced rats. **Res. Exp. Med.** 190:95-103.
- ◇ Levine S., Goldman L., Coover G. (1972). Expectancy of the pituitary-adrenal system. In: Physiology, emotion and psychosomatic illness. **CIBA Foundation symposium 8**. Amsterdam: Elsevier/Excerpta Medica. pp. 281-291.
- ◇ Licht P., McGreery BR, Barnes R, Pang R (1983). Seasonal and stress related in plasma gonadotropins, sex steroids, and corticosterone in the bullfrog, *Rana catesbiana*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 50(1):124-145.
- ◇ Lightman S.L. (1994). How does the hypothalamus respond to stress? **Semin. Neurosci.** 6:215-219.
- ◇ Lim AT, Funder JW. (1983). Stress-induced changes in plasma, pituitary and hypothalamic immunoreactive Beta-endorphin: Effects of diurnal variations, adrenalectomy, corticosteroids, and opiate agonists and antagonists. **Neuroendocrinology** 36(3):225-234.

- ◇ Lindzey J, Crews D (1992). Individual variation in intensity of sexual behaviors in captive *Cnemidophorus inornatus*. **Horm. Behav.** 26(1):46-55.
- ◇ López-Calderón A, Ariznavarreta C, González-Quijano M, Tresguerres J, Calderón M. (1991). Stress-induced changes in testis function. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.** 40:473-479.
- ◇ López-Calderón A., González-Quijano M., Tresguerres J., Ariznavarreta C. (1990). Role of LH-RH in the gonadotrophin response to restraint stress in intact male rats. **J. Endocrinol.** 124:241-246.
- ◇ MacLusky N., Naftolin F., Leranath C. (1988). Immunocytochemical evidence for direct synaptic connections between corticotrophin-releasing factor (CRF) and gonadotrophin releasing hormone (GnRH)-containing neurons in the preoptic area of the rat. **Brain Res.** 439:391-395.
- ◇ Mains R., Eipper E., Ling N. (1977). Common precursor to corticotropin and endorphins. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 74:3014-3018.
- ◇ Malmnas C. (1977). Short-latency effect of testosterone on copulatory behaviour and ejaculation in sexually experienced intact male rats. **J. Reprod. Fertil.** 51:351-354.
- ◇ Malyszko J., Takada Y., Urano T., Serizawa K., Kozima Y., Yan D., Takada A. (1994). Peripheral and central serotonergic systems in rats subjected to footshock or water immersion restraint stress. **Biog. Amines** 10:303-310
- ◇ Mason JW. (1968). A review of psychoendocrine research on the sympatho adrenal medullary system. **Psychosom. Med.** 30:576-607.
- ◇ Matsuda S, Peng H, Yoshimura H, Went C, Fukuda T, Sakanaka M (1996). Persistent c-fos expression in the brain of mice with chronic social stress. **Neurosci. Res.** 26(2): 157-170.
- ◇ Mayerson B.J., Terenius L. (1977). Beta-endorphin and male sexual behavior. **Eur. J. Pharmacol.** 42:191-192.
- ◇ McCarty R. (1983) Stress behavior and the sympathetic-adrenal medullary system . In: Pohorecky LA, Brick J. (Eds). **Stress and alcohol use**. New York. Elsevier. Science Publishers p. 9
- ◇ McCarty R, Stone EA. (1984) Chronic stress and regulation of the sympathetic nervous system In: Usdin E, Kvetňansky R, Axelrod J. (Eds). **Stress: The role of catecholamines and other neurotransmitters**. New York; Gordon and Breach. pp.563-576.

- ◇ McCubbin JA. (1993). Stress and endogenous opioids: behavioral and circulatory interactions. **Biol. Psychol.** **35**:91-122.
- ◇ Meisel RL., Lumia A., Sachs B. (1980). Effects of olfactory bulb removal and flank shock on copulation in male rats. **Physiol. Behav.** **25**:383-387.
- ◇ Meisel R.L. and Sachs B.D. (1994). The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E. and Neil J. (Eds). **The physiology of reproduction**. Raven Press. NY. pp. 3-105.
- ◇ Melia K.R., Ryabinin A.E., Schroeder R., Bloom F.E., Wilson M.C. (1994). Induction and habituation of immediate early gene expression in rat brain by acute and repeated restraint stress. **J. Neurosci.** **14**:5929-5938.
- ◇ Mendoça MT, Licht P, Ryan MJ, Barnes R. (1985) Changes in hormonal levels in relation to breeding behavior in male bullfrog (*Rana catesbiana*) at the individual and population levels. **Gen. Comp. Endocrinol.** **58**(2):270-279.
- ◇ Menéndez-Patterson A., Flores-Lozano J.A., Fernandez S., Marin B. (1978). Stress and sexual behavior in male rats. **Physiol. Behav.** **24**:403-406.
- ◇ Meyerhoff J.L., Oleshansky M.A., Mougey E.H. (1988). Psychologic stress increases plasma levels of prolactin, cortisol, and POMC-derived peptides in man. **Psychosom. Med.** **50**:295-303.
- ◇ Millan M.J., Przewlocki R., Jerlics M., Gramsch Ch., Holtt V., Herz A. (1981). Stress-induced release of brain and pituitary beta-endorphin: Major role of endorphins in generation of hyperthermia, not analgesia. **Brain Res.** **208**:325-338.
- ◇ Moberg G.P. (1985). Influence of stress on reproduction: Measure of well-being. In: Moberg GP. (Ed.). **Animal Stress**. American Physiological Society. Bethesda, Maryland. pp. 245-268.
- ◇ Moberg G.P., Matteri R., Maiti B., Watson J. (1983) Effects of behavioral stressors on pituitary responsiveness to GnRH administration in rams. **J. Anim. Sci.** **57 Suppl** **1**:360-365.
- ◇ Mogenson G.J., Jones D.L., Yim C.Y. (1980). From motivation to action: Functional interface between the limbic system and the motor system. **Prog. Neurobiol.** **14**:69-97.
- ◇ Monder C. (1991). Corticosteroids, receptors, and the organ-specific functions of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. **FASEB J.** **5**:3047-3054.

- ◇ Monder C., Sakai R.R., Miroff Y., Blanchard D.C., Blanchard R.J. (1994). Reciprocal changes in plasma corticosterone and testosterone in stressed male rats maintained in a visible burrow system: Evidence for a mediating role of testicular 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. **Endocrinology** **134**:1193-1198.
- ◇ Moore F.L., Miller L.J. (1984). Stress-induced inhibition of sexual behavior: Corticosterone inhibits courtship behaviors of a male amphibian (*Taricha granulosa*). **Horm. Behav.** **18**:400-410.
- ◇ Morely J.E., Levine A.S. (1982). Corticotropin-releasing factor, grooming and ingestive behavior. **Life Sci.** **31**:1459-1464.
- ◇ Mormède P., Lemaire V., Castanon N., Dulluc J., Laval M., Le Moal M. (1990). Multiple neuroendocrine responses to chronic social stress: Interaction between individual characteristics and situational factors. **Physiol. Behav.** **47**:1099-1105.
- ◇ Mosconi G., Carnevali O., Facchinetti F., Neri Y., Polzonetti-Magni A. (1994). Opioid peptide modulation of stress-induced plasma steroid changes in the frog *Rana esculenta*. **Horm. Behav.** **28**:130-138.
- ◇ Mrosovsky N. (1990). **Rheostasis. The physiology of change.** Oxford University Press, New York. 439 pp
- ◇ Mulder A.H., Schoffeleer A.N. (1993). Multiple opioid receptors and presynaptic modulation of neurotransmitter release in the brain. In: Herz A. (Ed.). **Opioids I. Handbook of experimental pharmacology**, Vol. 104. Springer-Verlag, New York. pp.125-144.
- ◇ Munk A., Guyre P., Holbrook N. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. **Endocrin. Rev.** **5**:25-44.
- ◇ Musso N., Vergassola C., Pende A., Lotti G. (1989). Reversed-phase HPLC separation of plasma norepinephrine, epinephrine and dopamine with three electrode coulometric detection. **Clin. Chem.** **35**:1975-1982.
- ◇ Natelson B.H., Tao W., Adamus J., Mittler J., Levin B. (1981). Humoral indices of stress in rats. **Physiol. Behav.** **26**:1049-1054.
- ◇ Natelson B.H., Creighton D., McCart R., Tapp W., Pitman D., Ottenweller J.E. (1987). Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats. **Physiol. Behav.** **39**:117-125.
- ◇ Naumenko E.V., Serova L.I. (1991). Role of gamma-aminobutyric acid in the inhibitory effect of emotional stress on the sexual activity of mice. **Neurosci. Behav. Physiol.** **21**(2):93-95.

- ◇ Nauta W.J.H., Feirtag M. (1986). **Fundamental neuroanatomy**. WH Freeman. New York. pp. 396.
- ◇ Nemeroff C.B. (1988) The role of corticotropin-releasing factor in the pathogenesis of major depression. **Pharmacopsychiatry** 21(2):76-82.
- ◇ Nock B.L., Leshner A.I. (1976). Hormonal mediation of the effects of defeat on agonistic responding in mice. **Physiol. Behav.** 17:111-119.
- ◇ Norman R., Smith C. (1992). Restraint inhibits luteinizing hormone and testosterone secretion in intact male Rhesus macaques: Effects of concurrent naloxone administration. **Neuroendocrinology** 55:405-415
- ◇ O'Byrne K.T., Lunn S.F., Dixon A.F. (1989). Naloxone reversal of stress-induced suppression of LH release in the common marmoset. **Physiol. Behav.** 45:1077-1080.
- ◇ Oka K., Hirano T. (1987). Combine use of rapid-flow fractionation and high-performance liquid chromatography for the determination of serum testosterone and application to study of stress response to physical exercise. **J. Chromatogr.** 423:285-291.
- ◇ Olson G.A., Olson R.D., Kastin A.J. (1994). Endogenous opiates: 1993. **Peptides**. 15:1513-1556.
- ◇ Opstad P.K. (1994). Circadian rhythm of hormones is extinguished during prolonged physical stress, sleep and energy deficiency in young men. **Eur. J. Endocrinol.** 131:56-66.
- ◇ Orchinik M.P., Licht M.P. Crews D. (1988). Plasma steroid concentrations change in response to sexual behavior in *Bufo marinus*. **Horm. Behav.** 22:338-350.
- ◇ Orr T.E., Mann D.R. (1990). Effects of restraint stress on plasma LH and testosterone concentrations, Leydig cell LH/HCG receptors, and *in vitro* testicular steroidogenesis in adult rats. **Horm. Behav.** 24:324-341.
- ◇ Orr T.E., Taylor M.F., Bhattacharyya A.K., Collins D.C., Mann D.R. (1994). Acute immobilization stress disrupts testicular steroidogenesis in adult male rats by inhibiting the activities of 17-alpha-hydroxylase and 17, 20-lyase without affecting the binding of LH/hGC receptors. **J. Androl.** 15:302-308.
- ◇ Ottenweller J.E., Servatius R.J., Natelson B. (1994). Repeated stress persistently elevates morning, but not evening, plasma corticosterone levels in male rats. **Physiol. Behav.** 55:337-340.

- ◇ Owens MJ, Nemeroff CB. (1988). The neurobiology of corticotropin-releasing factor: Implications for affective disorders. In: Schatberg AF, Nemeroff CB, (Eds). **The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: Physiology, pathophysiology and psychiatric implications**. Raven Press. New York, pp.1-35.
- ◇ Pacák K., Armando Y., Fukuhara K., Kvetňanský R., Palkovits M., Kopin Y., Goldstein D. (1992). Noradrenergic activation in the paraventricular nucleus during acute and chronic immobilization stress in rats: An *in vivo* microdialysis study. **Brain Res.** 589:91-96.
- ◇ Pacák K, Palkovits M, Kvetňanský R, Fukuhara K, Armando Y, Kopin Y, Goldstein D. (1993). Effects of single or repeated immobilization on release of norepinephrine and its metabolites in the central nucleus of the amygdala in conscious rats. **Neuroendocrinology** 57:626-633.
- ◇ Paice JA, Penn RD, Ryan WG. (1994). Altered sexual function and decreased testosterone in patients receiving intraspinal steroids. **J. Pain Symptom. Manage.** 9(2):126-131.
- ◇ Palkovits M., Kobayashi R.M., Kizer J.S., Jacobowitz D.M., Kopin I.J. (1975). Effects of stress on catecholamines and tyrosine hydroxylase activity on individual hypothalamic nuclei. **Neuroendocrinology** 18:144-153.
- ◇ Pednekar J.R., Mulgaonker V.K., Mascarenhas J.F. (1993). Effect of intensity and duration of stress on male sexual behavior. **Indian J. Exp. Biol.** 31(7):638-640.
- ◇ Pedrón N, Pedroza D, Calzada L, Salazar L, Fuentes V. (1996). Effect of naloxone on serum testosterone in adult male rabbits. **Arch. Androl.** 37(1):15-18.
- ◇ Peirce J.T., Nuttall R.L. (1961). Duration of sexual contacts in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.** 54:585-587.
- ◇ Persengiev S., Kanchev L., Vezenkova G. (1991). Circadian patterns of melatonin, corticosterone, and progesterone in male rats subjected to chronic stress: Effect of constant illumination. **J. Pineal Res.** 11:57-62.
- ◇ Pfaus J.G., Gorzalka B.B. (1987). Opioids and sexual behavior. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 11:1-34.
- ◇ Pfaus J.G., Phillips A.G. (1991). Role of dopamine in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in the male rat. **Behav. Neurosci.** 105:727-743.
- ◇ Pitman D.L., Natelson B.H., Ottenweller J.E., McCarty R., Pritzel T., Tapp W.N. (1995). Effects of exposure to stressors of varying predictability on adrenal function in rats. **Behav. Neurosci.** 109:767-776.

- ◇ Poggioli R, Vergoni AV, Santi R, Carani C, Baraghini GF, Zini D, Marrama P, Bertolini A. (1984). Sexual behavior of male rats: Influence of short- and long-term adrenalectomy. **Horm. Behav.** **18**(1):79-85.
- ◇ Popova I., Afonin B., Davydova N., Ushakov A. (1989). Hormonal regulation in space flight of varying duration. In: Van Loon G., Kvetřanský R., McCarty R., Axelrod J. (Eds). **Stress: neurochemical and humoral mechanisms**. Gordon and Breach Science Publishers S.A., New York, USA. pp:1015-1029.
- ◇ Posner Y., Conway K.M. (1981). Arousal of sexual and aggressive contact by exposure to stressors in albino rats. **J. Gen. Psychol.** **104**:145-151.
- ◇ Prince C., Anisman H. (1990). Situation specific effects of stressor controllability on plasma corticosterone changes in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **37**:613-621.
- ◇ Rabin D., Gold P.W., Margioris A.N., Chrousos G.P. (1988). Stress and reproduction: Physiologic interactions between the stress and reproductive axes. In: Chrousos G.P., Loriaux D.L., Gold P.W. (Eds). **Mechanisms of physical and emotional stress**. Vol. 245. Advances in experimental medicine and Biology. New York; Prentice-Hall. pp:377-387.
- ◇ Rabin D., Johnson E.O., Brandon D.D., Liapi C., Ghrousos G.P. (1990). Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine growth: Possible role of the uterine estradiol receptor. **Biol. Reprod.** **42**:74-80.
- ◇ Reiner Z., Oreskovic M., Ribaric K. (1987). Endocrine responses to head and neck surgery in men. **Acta Oto. Laringol.** **103**:665-668.
- ◇ Remes K., Kuoppasalmi K., Adlercreut H. (1985). Effect of physical exercise and sleep deprivation on plasma androgen levels: Modifying effect of physical fitness. **Int. J. Sports Med.** **6**:131-135.
- ◇ Retana-Márquez S., Domínguez Salazar E., Velázquez-Moctezuma J. (1996). Effect of acute and chronic stress on masculine sexual behavior in the rat. **Psychoneuroendocrinology** **21**:39-50.
- ◇ Retana-Márquez S., Bonilla-Jaime H., Velázquez-Moctezuma J. (1998). Lack of effect of corticosterone on masculine sexual behavior in rat. **Physiol. Behav.** **63**:367-370.
- ◇ Reul J., DeKloet E. (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: Microdistribution and differential occupation. **Endocrinology** **177**:2505-2512.

- ◇ Ringstrom S., Suter D., D'Agostino J., Hostetler J., Schwartz N. (1991). Effects of glucocorticoids on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. In: Genazzani A., Nappi G., Petraglia F., Martignoni E. (Eds.) **Stress and related disorders: From adaptation to dysfunction**. The parthenon Publishing group. New Jersey, USA. pp: 297-305.
- ◇ Rivest S., Rivier C. (1991). Influence of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the alteration of neuroendocrine functions induced by intermittent footshock or interleukin. **Endocrinology**, **129**:2049-2057.
- ◇ Rivier C., Rivest S. (1991). Effects of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: Peripheral and central mechanisms. **Biomed. Biochem. Acta** **45**:523-532.
- ◇ Rivier C., Rivier J., Vale W. (1986). Stress-induced inhibition of reproductive functions: Role of endogenous corticotropin-releasing factor. **Science** **231**:607-609.
- ◇ Rivier C., Vale W. (1983). Modulation of stress-induced ACTH release by CRF, catecholamines, and vasopresin. **Nature** **305**:325-327.
- ◇ Rivier C., Vale W. (1984). Influence of corticotropin-releasing factor on reproductive functions in the rat. **Endocrinology** **114**:914-921.
- ◇ Rossier J., French E.D., Rivier C., Ling N., Guillemin R., Bloom F.E. (1977). Foot-shock induced stress increases beta-endorphin levels in blood but not brain. **Nature** **270**:618-620.
- ◇ Roth K., Mefford Y., Barchas J.D. (1982). Epinephrine, norepinephrine, dopamine and serotonin: Differential effects of acute and chronic stress on regional amines. **Brain Res.** **239**:417-424.
- ◇ Sachs B.D. (1978). Conceptual and neural mechanisms of masculine copulatory behavior. In: McGill T.E., Dewsbury D.A., Sachs B.D. (eds). **Sex and behavior**. Plenum Press. New York. pp. 267-295.
- ◇ Sachs B.D., Garinello L.D. (1979). Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. **Brain Res.** **171**:152-156.
- ◇ Saffran M., Schally A.V., Bentley B.G. (1955). Stimulation of the release of corticotropin from the adenohypophysis by a neurohypophyseal factor. **Endocrinology** **57**:439-444.
- ◇ Sanaka M., Magari S., Shibasaki T., Inoue N. (1989). Co-localization of corticotropin-releasing factor- and enkephaline-like immunoreactivities in nerve cells of the rat hypothalamus and adjacent areas. **Brain res.** **487**:357-362.

- ◇ Sapolsky R., Krey L.C., McEwen B.S. (1986). The neuroendocrinology of stress and aging: The glucocorticoid cascade hypothesis. **Endocr. Rev.** 7:622-629.
- ◇ Sapolsky R.M. (1987). Stress, social status, and reproductive physiology in free-living baboons. In: Crews D. (Ed.). **Psychobiology of reproductive behavior**. Prentice-Hall, Englewood Cliffs. N.J. pp. 291-332.
- ◇ Sapolsky R.M. Krey L.C. (1988). Stress-induced suppression of luteinizing hormone concentrations in wild baboons: Role of opiates. **J. Clin. Endocr. Metab.** 66:722-726.
- ◇ Sar M., Stumpf W.E. (1973). Autoradiographic localization of radioactivity in the rat brain after the injection of 1, 2-³H-testosterone. **Endocrinology** 92:251-256.
- ◇ Sato Y, Kumamoto Y, Suzuki N. (1992). Psychological stress and sexual behavior in male rats. I. Sexual Behavior in the rats undergoing psychological or physical stress. **Folia Endocrinologica Japonica** 83(2):205-211.
- ◇ Sato Y, Kumamoto Y. (1992). Psychological stress and sexual behavior in male rats. II. Effect of psychological stress on dopamine and its metabolites in the critical brain areas mediating sexual behavior. **Folia Endocrinologica Japonica** 83(2):212-219.
- ◇ Sato Y, Suzuki N, Horita H, Wada H, Shibuya A, Adachi H, Tsukamoto T, Kumamoto Y, Yamamoto M. (1996). Effects of long-term psychological stress on sexual behavior and brain catecholamine levels. **J. Androl.** 17(2):83-90.
- ◇ Sawchenko P., Swanson L., Vale W. (1984). Co-expression of CRF and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons of the adrenalectomized rat. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 81:1883-1887.
- ◇ Schedlowski M., Flüge T., Richter S., Tewes U., Schmidt R.E., Wagner T. (1995). β -endorphin, but not substance-P, is increased by acute stress in humans. **Psychoneuroendocrinology** 20:103-110.
- ◇ Schoelch Krieger M., Barfield R.J. (1976). Masculine sexual behavior: Pacing and ejaculatory patterns in female rats induced by electrical shock. **Physiol. Behav.** 16:671-675.
- ◇ Schuett G.W., Harlow H.J., Rose J.D., Van Kirk E.A., Murdoch W.J. (1996). Levels of plasma corticosterone and testosterone in male copperheads (*Agkistrodon contortrix*) following staged fights. **Horm. Behav.** 30:60-68.
- ◇ Selye H. (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature** 138:32.
- ◇ Selye H. (1946). The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. **J. Clin. Endocrinol.** 6:117-230.

- ◇ Selye H. (1950). The physiology and pathophysiology of exposure to stress. **Montreal: Acta.**
- ◇ Shanks N., Zalzman S., Zacharo R., Anisman H. (1991). Alterations of central norepinephrine, dopamine and serotonin in several strains of mice following acute stressor exposure. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **38**:69-75.
- ◇ Sharma O., Hays R. (1974). Increasing copulatory behaviour in ageing male rats with an electrical stimulus. **J. Reprod. Fertil.** **39**:111-113.
- ◇ Shu-Dong T., Phillips D., Halmi N., Krieger D., Bardin C. (1982). Beta-endorphin is present in the male reproductive tract of five species. **Biol. Rep.** **27**:755-764
- ◇ Siegel R., Weidenfeld J., Feldman S., Conforti N, Chowers Y., (1981). Neural pathways mediating basal and stress-induced secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and testosterone in the rat. **Endocrinology** **108**:2302-2307.
- ◇ Siiteri P., Murai J., Hammond G., Nisker J., Raymoure W., Kuhn R. (1982). The serum transport of steroid hormones . **Recent Prog. Horm. Res.** **38**:457-510.
- ◇ Sirinathsinghji D.J.S. (1986). Regulation of lordosis behaviour in the female rat by corticotropin-releasing factor, β -endorphin/corticotropin and luteinizing hormone-releasing hormone neuronal systems in the medial preoptic area. **Brain Res.** **375**:49-56.
- ◇ Sirinathsinghji D.J.S. (1987). Inhibitory influence of corticotropin releasing factor on components of sexual behaviour in the male rat. **Brain Res.** **407**:185-190.
- ◇ Sirinathsinghji D.J.S., Rees L.H., Rivier J., Vale W. (1983). Corticotropin-releasing factor is a potent inhibitor of sexual receptivity in the female rat. **Nature** **305**:232-235.
- ◇ Smith E.R., Damasa D.A. Davidson J.M. (1977). Plasma testosterone and sexual behavior following intracerebral implantation of testosterone propionate in the castrated male rat. **Horm. Behav.** **8**:77-87.
- ◇ Södersten P. (1975). Mounting behavior and lordosis behavior in castrated male rats treated with testosterone propionate, or with estradiol benzoate or dihydrotestosterone in combination with testosterone propionate. **Horm. Behav.** **6**:109-126.
- ◇ Södersten P., Larsson K. (1976). Sexual behavior in castrated male rats treated with monoamine synthesis inhibitors and testosterone. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **5**:319-327.

- ◇ Stanford C. (1993). Monoamines in response and adaptation to stress. In: Stanford C., Salmon P., Gray J. (eds). **Stress. From synapse to syndrome**. Academic Press. N.Y. pp. 281-331.
- ◇ Suda T, Tomori N, Tozawa F, Demura H, Shizume K, Mouri T, Miura Y, Sasaro N. (1984). Immunoreactive corticotropin and corticotropin-releasing factor in human hypothalamus, adrenal, lung cancer and pheochromocytoma. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** **58**:919-924.
- ◇ Sutton R., Koob G., Le Moal M., Rivier J., Vale W. (1982). Corticotropin releasing factor produces behavioural activation in rats. **Nature** **297**:331-333
- ◇ Taché Y., Du Ruisseau P., Ducharme J., Collu R. (1978). Pattern of adrenohypophyseal hormone changes in male rat following chronic stress. **Neuroendocrinology** **26**:208-219.
- ◇ Taché Y., Ducharme J., Charpenet G., Haour F., Saez J., Collu R. (1980). Effect of chronic intermittent immobilization stress on hypophyso-gonadal function of rats. **Acta Endocrinol.** **93**:168-174.
- ◇ Takahashi L.K., Kalin N.H., Vanden Burgt J.A., Sherman J.E. (1989). Corticotropin-releasing factor modulates defensive-withdrawal and exploratory behavior in rats. **Behav. Neurosci.** **103**:648-654.
- ◇ Takahashi M, Tokuyama S., Kaneto H. (1987). Implication of endogenous opioid mechanism in the production of the antinociceptive effect induced by psychological stress in mice. **Japan J. Pharmacol.** **44**:283-291.
- ◇ Tanaka M., Kohno Y, Nakagawa R, Ida Y, Takeda S, Nagasaki N. (1982). Time-related differences in noradrenaline turnover in rat brain regions by stress. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **16**(2):315-319.
- ◇ Tanaka T, Yokoo H, Mizoguchi K, Yoshida M, Tsuda A, Tanaka M. (1991). Noradrenaline release in the rat amygdala is increased by stress: Studies with intracerebral microdialysis. **Brain Res.** **544**:174-176.
- ◇ Taylor G., Weiss J., Rupich R. (1987). Male rat behavior, endocrinology and reproductive physiology in a mixed-sex, socially stressful colony. **Physiol. Behav.** **39**:429-433.
- ◇ Terman G, Shavit Y, Lewis J, Cannon J, Liebeskind J. (1984). Intrinsic mechanisms of pain inhibition: Activation by stress. **Science** **226**:1270-1277.
- ◇ Tilders F., Berkenbosch F. (1986). CRF and catecholamines; their place in the central and peripheral regulation of the stress response. **Acta Endocrinol. Suppl.** **276**:63-75.

- ◇ Tokarz R.R. (1987). Effects of corticosterone treatment on male aggressive behavior in a lizard (*Anolis sagrei*). **Horm. Behav.** 21:358-370.
- ◇ Torrellas A., Guaza C., Borrell J., Borrell S. (1981). Adrenal responses and brain catecholamines responses to morning and afternoon immobilization stress in rats. **Physiol. Behav.** 26:129-133.
- ◇ Tsopanakis A., Stalikas A., Sgouraki E., Tsopanakis C. (1994). Stress adaptation in athletes: Relation of lipoprotein levels to hormonal response. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 48:377-382.
- ◇ Tsopanakis C., Tesseromatis C. (1991). Cold swimming stress: Effects on serum lipids, lipoproteins and LCAT activity in male and female rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 38:813-816.
- ◇ Tsuchiya T., Horii I. (1995a). Different effects of acute and chronic immobilization stress on plasma testosterone levels in male syrian hamsters. **Psychoneuroendocrinology** 20:95-102.
- ◇ Tsuchiya T., Horii I. (1995b). Immobilization-induced stress decreases lipogenesis in sebaceous glands as well as plasma testosterone levels in male syrian hamsters. **Psychoneuroendocrinology** 20:221-230.
- ◇ Van Furth W.R., Wolterink G., Van Ree J.M. (1995). Regulation of masculine sexual behavior: Involvement of brain opioids and dopamine. **Brain Res. Rev.** 21:162-184.
- ◇ Van Loon G.R., Appel N.M., Ho D. (1981). Beta-endorphin-induced increases in plasma epinephrine, norepinephrine and dopamine in rats: Inhibition of adrenomedullary response by intracerebral somatostatin. **Brain Res.** 212:207-214.
- ◇ Valentino RJ, Cha CI, Foote SC. (1986). Anatomic and physiologic evidence for innervation of noradrenergic locus coeruleus by neural corticotropin-releasing factor. **Soc. Neurosci. Abstr.** 12:1003
- ◇ Virgin C.E., Ha T., Packan D., Tombaugh G., Yang S., Homer H., Sapolsky R. (1991). Glucocorticoids inhibit glucose transport and glutamate uptake in hippocampal astrocytes: Implications for glucocorticoid neurotoxicity. **J. Neurochem.** 57:1422-1428.
- ◇ Vreeburg J.T. De Greef W.J., Ooms M.P., Van Wouw P., Weber R.F.A. (1984). Effects of adrenocorticotropin and corticosterone on the negative feedback action of testosterone in the adult male rat. **Endocrinology** 115:977-983.
- ◇ Wang L., Hull E. (1980). Tail pinch induces sexual behavior in olfactory bulbectomized male rats. **Physiol. Behav.** 24:211-215.

- ◇ Watanabe T., Morimoto A., Sakata Y., Wada M., Murakami N. (1991). The effect of chronic exercise on the pituitary-adrenocortical response in conscious rats. *J. Physiol.* **439**:691-699.
- ◇ Wheeler G., Cumming D., Burnham R., Maclean Y., Sloley B., Bhambhani Y., Steadward R. (1994). Testosterone, cortisol and catecholamine responses to exercise stress and autonomic dysreflexia in elite quadriplegic athletes. *Paraplegia* **32**:292-299.
- ◇ Wingfield J. (1985). Short-term changes in plasma levels of hormones during establishment and defense of a breeding territory in male song sparrows *Melospiza melodia*. *Horm. Behav.* **19**:174-187.
- ◇ Woodward, C., Emery, P. (1987). Determination of plasma corticosterone using high performance liquid chromatography. *J. Chromatography* **419**:280-284.
- ◇ Wonnacott S., Göthert M., Chahl L., Willow M., Nicholson G. (1995). Modulation of neurotransmitter release by some therapeutic and socially used drugs. In: Ponis D.A., Bumm S.J. (eds). *Neurotransmitter and its modulation. Biochemical mechanisms, physiological function and clinical relevance*. Cambridge University Press. pp.287-325.
- ◇ Yap B.K., Kazlauskas R., Elghazi K., Johnston G.A., Weatherby R.P. (1996). Profiling of urinary testosterone and luteinizing hormone in exercise-stressed male athletes, using gas chromatography-mass spectrometry and enzyme immunoassay techniques. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* **687**:117-125.
- ◇ Yates E., Marsh D., Maran J. (1980). The adrenal cortex. In: Mountcastle V. (Ed.) *Medical physiology*. Vol. II. 14th ed. C.V. Mosby. St. Louis. pp.1558-1601.
- ◇ Young E.A. (1990). Induction of the intermediate lobe POMC system with chronic swim stress and β -adrenergic modulation of this induction. *Neuroendocrinology* **52**:405-411.
- ◇ Young E., Akil H. (1985). Changes in releasability of ACTH and β -endorphin with chronic stress. *Neuropeptides* **5**:545-548.
- ◇ Young AM, Woods JH (1982). Limitations of the antagonistic actions of opioid antagonists. *Fed. Proc.* **41**:2333-2338.
- ◇ Zar J.H. (1984). *Biostatistical analysis*. 2nd ed. Prentice Hall. New Jersey. 718 pp.
- ◇ Zerani M, Gobbetti A. (1993). Corticosterone during the annual reproductive cycle and in sexual behavior in the crested newt, *Triturus cristatus*. *Horm. Behav.* **27**(1):29-37.

APENDICE



0306-4530(95)00029-1

EFFECT OF ACUTE AND CHRONIC STRESS ON MASCULINE SEXUAL BEHAVIOR IN THE RAT

Socorro Retana-Marquez, Emilio Dominguez Salazar and
Javier Velazquez-Moctezuma

Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa,
México City C.P. 09340, México

(Received 20 May 1994; in final form 8 June 1995)

SUMMARY

Masculine sexual behavior in rats can be stimulated by acutely stressing the animals. Nevertheless, little is known about the effect that different stressors could have on sexual behavior. In this work we studied the effect of different stressors applied both acutely and chronically on masculine sexual behavior. Sexually active male Wistar rats were submitted to stress by: immobilization (IMB); immersion in cold water (WIM); and electrical foot shock (EFS). These stressors were applied during 20 consecutive days and masculine sexual behavior was assessed on days 1, 4, 8, 12, 15 and 20. Motivational component, copulatory performance and copulatory potential were drastically altered by WIM. EFS produced significant alterations in almost all sexual parameters recorded but only when it was applied chronically. IMB only altered mount frequency and hit rate, although inconsistently. These results suggest that the effect of stress on sexual behavior depends on the nature and, in some conditions, on the duration of the stressor.

Keywords—Sexual behaviour; Chronic stress; Acute stress; Immobilization; Foot shocks; Water immersion.

INTRODUCTION

It is well known that stressful situations elicit adaptative responses in organisms, in an attempt to re-establish homeostasis. The adaptative response to stress seems to depend on the type (physical or emotional), intensity and duration (acute or chronic) of the stimulus, as well as on the characteristics and physiological state of the organism concerned (De Wied, 1980). The endocrine response to stress is not limited to activation of the hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system, but involves the hypothalamo-hypophyseal-gonadal system and other neuroendocrine axes. Physical or emotional stress is a profound disruptive factor to reproductive function (Johnson et al., 1992). In males, stress induces suppression of testosterone secretion, spermatogenesis and libido (Collu et al., 1984; Johnson et al., 1992; Rabin et al., 1990).

Address correspondence and reprint requests to: Javier Velazquez-Moctezuma, Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Purísima y Michoacan, Col. Vicentina, C.P. 09340, Del. Iztapalapa, Mexico City D.F., Mexico.

On the other hand, chronic stress by immobilization, intermittent electric foot shocks, surgery or crowding has been reported to produce an increase in circulating levels of adrenocorticotrophin (ACTH), as well as a general inhibitory effect on pituitary-gonadal function, both in males and females. In males, chronic stress induces low circulating levels of testosterone (T), prolactin and follicle-stimulating hormone (FSH) (Armario et al., 1986; Collu et al., 1979; Farabollini et al., 1978; cf. Mormède et al., 1990; cf. Taylor et al., 1987).

Although T is known to be critical for an adequate expression of male sexual behavior (Beyer et al., 1981; Davidson, 1966; Malmnas, 1977), little is known about the effect that different stressors could have on sexual behavior. It is known that acute stress by electric shocks or tail pinching facilitates masculine sexual behavior (Barfield & Sachs, 1968; Caggiula, 1972; Goldfoot & Baum, 1972; Larsson, 1963; Meisel et al., 1980; Sharma & Hays, 1974; Wang & Hull, 1980), while immobilization impairs this behavior by increasing ejaculation latency and postejaculatory interval (Menendez-Patterson et al., 1978). Regarding the effects of chronic stress on sexual behavior, conflicting reports have recently been published. Chronic exposure to mild unpredictable stress inhibits male sexual behavior (D'Aquila et al., 1994) while, on the other hand, repeated restraint did not induced any noticeable deficit of male sexual performance (Albonetti & Farabollini, 1993).

In this study we analyzed the effects of three different stressful situations, applied both acutely and chronically, on the performance of masculine sexual behavior in rats.

METHODS

Male Wistar adult rats (300–350 g) were housed, five per cage (50×30×20 cm). The colony room was maintained on a 12:12 reverse light cycle (lights off 0900h) and controlled temperature (19–21°C). Food and water were available ad lib.

Males ($n = 47$) were tested for masculine sexual behavior twice in order to select those males displaying ejaculation at least once. Behavioral testing was performed under dim red illumination 3 h after the onset of the dark phase of the light cycle. Masculine sexual behavior was assessed by placing the male in a Plexiglas arena (45 cm diameter) 5 min before a stimulus receptive female was presented. The female rats were brought into sexual receptivity by administering estradiol benzoate (5 µg/0.05 ml oil, SC, once, daily). Female rats usually become receptive after 5 days of treatment, thereafter the dose of estradiol was adjusted according to behavioral response (i.e. between 80 and 100% of lordosis responses). To avoid stimulus habituation (Coolidge effect), the female rat was changed every 5 min (Wilson et al., 1963). After the presentation of the female, tests lasted 30 min. The following parameters were recorded: latency of first mount; latency of first intromission and latency of first ejaculation; mount, intromission and ejaculation frequencies; and postejaculatory interval. The following indexes were obtained: hit rate; average interintromission interval; and average intercopulatory interval. These data were acquired during all the ejaculatory series. An ejaculatory series was defined as the group of events that take place after an initial mount, until the first mount that occurred after the subject ejaculated. The full description of masculine sexual behavior parameters has been detailed elsewhere (Sachs & Meisel, 1988).

Sexually active males ($n = 40$) were randomly assigned to one of the following groups.

Stress by Immobilization (IMB) ($n = 10$)

Rats were restrained in a Plexiglas cylinder (5 cm diameter; 16 cm large) for 2 h.

Stress by Water Immersion (WIM) ($n = 10$)

Subjects were placed in a tank of cold water (height = 16 cm; temperature = 15°C) where they either swam or remained in an upright position keeping their heads above the water level. This situation lasted for 15 min unless the subjects sank. In that event, they were removed before the cutoff time and remained in the experiment. Because only two rats sank, no special observation was made between a shorter duration of immersion time and sexual performance.

Stress by Electric Foot Shocks (EFS) ($n = 10$)

Subjects were placed in a chamber with an electrified grid floor. Unavoidable electric shocks (intensity = 3 mA; duration = 200 ms; frequency = 1 per s) were delivered for 5 min.

Control Group ($n = 10$)

These males remained undisturbed in their cages.

Sexual behavior tests were performed 1 h after the application of the stressor. We chose this time because it is reported that circulating levels of the different hormones related to stress are affected after the first minute and remain modified for more than 1 h (Armario et al., 1986; Collu et al., 1979; Gray et al., 1978; López-Calderón et al., 1990; Natelson et al., 1987; Norman & Smith, 1992).

Rats were stressed daily for 20 days and sexual behavior was assessed on days 1, 4, 8, 12, 15 and 20, both in stressed and in control rats. One week elapsed between the pre-test to select the males and the first test of sexual behavior to assess the effect of stress.

Statistical analysis was performed using the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance (ANOVA) to assess both the effect of the different stressors in the same day, as well as the cumulative effect of the same stressor during the different days. When significant, ANOVA was followed by Dunn tests to determine the source of significance (Zar, 1984).

RESULTS

Figure 1 shows the effects of the different stressors on mount latency and intromission latency. Mount latency only showed a slight but significant increase during the 20th day of EFS. The WIM group displayed a noteworthy increase in their mount latency in the first day and an even bigger increase during days 15 and 20. Significant increases in intromission latency were shown with all the stressors. Rats submitted to EFS only increased their intromission latency during the 20th day, whereas the WIM group showed remarkable increases almost during the entire test period. IMB rats did not show significant differences in mount latency. Intromission latency was significantly larger, when compared to the control group, during the first and on the 12th day.

During the first ejaculatory series, the WIM group showed significant increases in ejaculation latency during most of the entire test period (Fig. 2). The EFS group also increased ejaculation latency during days 8, 15 and 20. On the other hand, the IMB group showed a trend towards a decrease in ejaculation latencies, reaching statistical significance

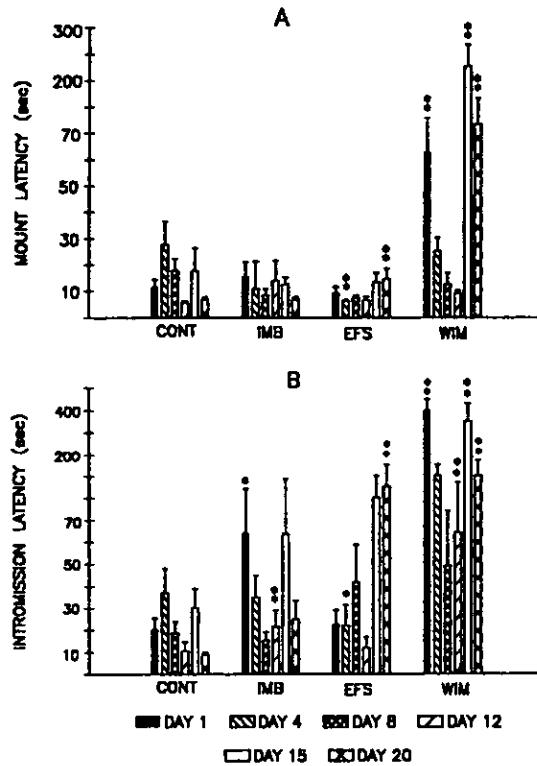


Fig. 1. Effects of immobilization (IMB), electric foot shocks (EFS) and water immersion (WIM) on mount (A) and intromission (B) latencies. Dunn test, compared to control (CONT) group. $p < .05$. $^*p < .001$.

on days 8 and 12. The same profile was observed in the average interintromission interval in Table I. The IMB group only decreased on day 8, while increases in the interintromission interval were observed in EFS and WIM groups on days 8–20 and on days 1 and 8–15, respectively. The intercopulatory interval was significantly decreased in the IMB group during days 1, 8 and 20, while the EFS and WIM groups only showed a significant decrease on the first day (Table II).

All stressors induced a significant increase in mount frequency (Fig. 3). The weakest effect was displayed in the IMB group: an increased mount frequency only occurred on the first and the fourth day. EFS and WIM groups showed significant increases in mount frequency during all tests (E). Similar results were observed during the second ejaculatory series. Intromission frequency preceding ejaculation did not show any significant modification in the stressed groups when compared to control values.

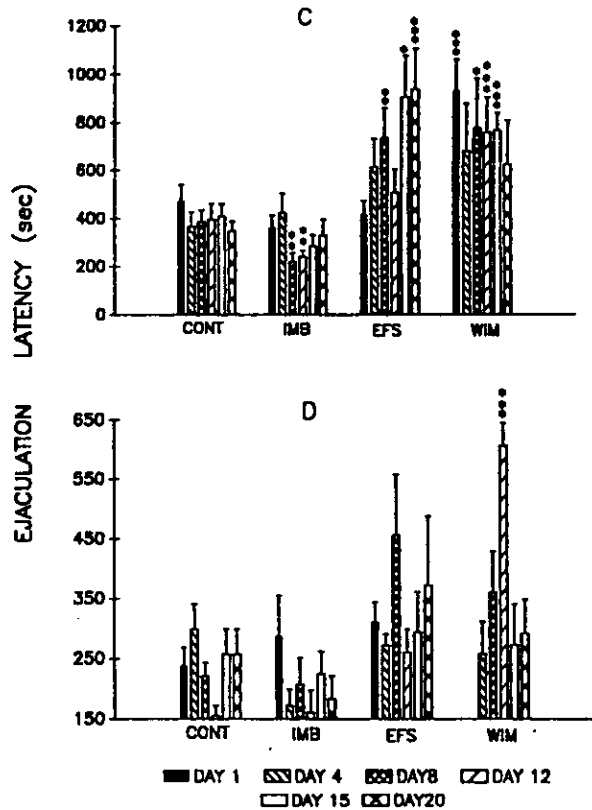


Fig. 2. Effects of immobilization (IMB), electric foot shocks (EFS) and water immersion (WIM) on the ejaculation latency, during the first (C) and the second (D) ejaculatory series. Dunn test, compared to control (CONT) group. $p < .05$. $^{***} p < .01$. $^{****} p < .001$.

As a consequence of the increase in the number of mounts, significant decreases occurred in hit rate. As can be seen, all the stressors effected significant decreases in hit rate in both series (Fig. 4). Again, the weakest effects are shown in the IMB group.

The ejaculatory frequency in the IMB group did not change (Fig. 5). Ejaculatory frequency in the EFS group decreased after the first test. The strongest effect on ejaculatory frequency was displayed in the WIM group, which showed a marked decrease during the entire period. In this WIM group, 40% of males did not display any sexual activity during stress days 1, 4, 15 and 20, and 10% on days 8 and 12 (data not shown). Sexually active males in the WIM group ejaculated only once or did not ejaculate. In the other groups, all males ejaculated on all days of testing.

Table I. Data express: second mean \pm SEM Dunn test, compared to control (CONT) group.
A = First ejaculatory series. B = Second ejaculatory series. * $p < .01$. ** $p < .001$

Average interintromission interval				
Day	Control	IMB	EFS	WIM
First series				
1	47.3 \pm 4.15	37.4 \pm 3.20	45.0 \pm 6.02	76.4 \pm 5.10**
4	36.7 \pm 4.50	32.0 \pm 4.30	44.5 \pm 5.60	58.9 \pm 13.8
8	39.8 \pm 4.60	23.9 \pm 3.80*	51.9 \pm 4.75*	81.2 \pm 14.6**
12	31.2 \pm 7.80	29.7 \pm 2.50	66.8 \pm 9.60**	64.6 \pm 10.3**
15	44.2 \pm 5.10	31.2 \pm 4.30	89.9 \pm 17.2*	73.1 \pm 9.50**
20	44.1 \pm 5.20	42.8 \pm 12.7	92.8 \pm 16.8**	48.6 \pm 8.30
Second series				
1	43.3 \pm 6.40	33.7 \pm 3.80	52.0 \pm 5.80	No data
4	33.9 \pm 4.50	31.5 \pm 3.90	47.3 \pm 4.17	53.9 \pm 6.80*
8	40.1 \pm 3.60	54.5 \pm 26.7	47.1 \pm 11.6	45.9 \pm 6.10
12	35.2 \pm 5.10	31.5 \pm 4.30	66.0 \pm 6.30**	55.8 \pm 6.70*
15	38.0 \pm 5.30	30.5 \pm 3.18	66.4 \pm 12.6	48.3 \pm 1.90
20	39.1 \pm 4.80	26.1 \pm 3.60	69.1 \pm 14.7	57.4 \pm 7.60*

Table II. Data express: second mean \pm SEM Dunn test, compared to control (CONT) group.
* $p < .05$. ** $p < .01$. *** $p < .001$

Average intercopulatory interval				
Day	Control	IMB	EFS	WIM
First series				
1	38.6 \pm 2.57	28.0 \pm 5.33*	30.6 \pm 6.20**	52.8 \pm 2.80**
4	30.4 \pm 4.01	20.8 \pm 2.68	25.2 \pm 2.51	34.6 \pm 4.50
8	31.1 \pm 2.90	17.1 \pm 2.29***	25.4 \pm 3.28	29.8 \pm 3.00
12	26.3 \pm 4.00	23.0 \pm 1.47	40.6 \pm 8.70	35.6 \pm 2.90
15	36.0 \pm 3.47	30.8 \pm 6.57	44.1 \pm 4.52	43.3 \pm 7.50
20	36.0 \pm 3.00	19.7 \pm 1.14***	40.0 \pm 4.92	33.2 \pm 4.76
2nd series				
1	39.7 \pm 5.6	24.3 \pm 3.4	25.2 \pm 4.6	No data
4	27.5 \pm 3.9	16.8 \pm 1.6	22.1 \pm 2.9	26.3 \pm 1.9
8	32.1 \pm 4.2	23.0 \pm 8.2	12.9 \pm 3.3	26.7 \pm 3.0
12	33.4 \pm 5.5	19.6 \pm 3.2	32.2 \pm 6.5	24.1 \pm 1.0
15	29.8 \pm 3.6	24.5 \pm 3.5	47.6 \pm 7.1	24.9 \pm 1.9
20	30.8 \pm 4.0	17.9 \pm 2.1	28.3 \pm 6.5	28.4 \pm 5.0

Analysis of cumulative influence of repeated stress on sexual behavior parameters showed only a few differences. EFS showed significant differences in three different parameters, intromission latency, ejaculation latency and hit rate, when day 20 was compared to the first

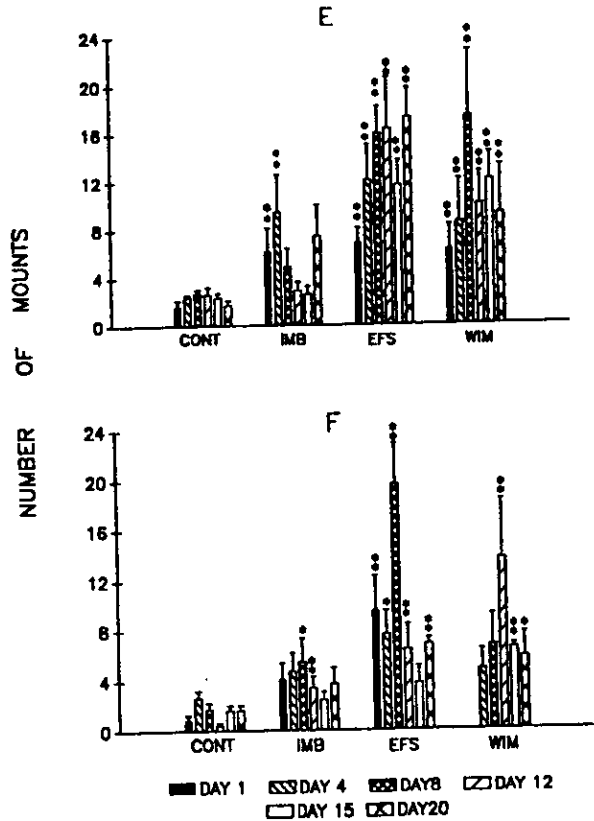


Fig. 3. Effects of immobilization (IMB), electric foot shocks (EFS) and water immersion (WIM) on the number of mounts preceding ejaculation, during the first (E) and the second (F) ejaculatory series. Dunn test, compared to control (CONT) group. * $p < .01$. ** $p < .001$.

day, whereas WIM revealed differences only in mount latency when the first day was compared with the 20th day. IMB showed no differences.

DISCUSSION

The results of this study suggest that different stressors modify sexual behavior in male rats and that these changes are differentially affected by the nature and, in some conditions, by the duration of the stressor. It must be pointed out that none of the stressors elicited noticeable changes in locomotor activity that could have impaired sexual performance.

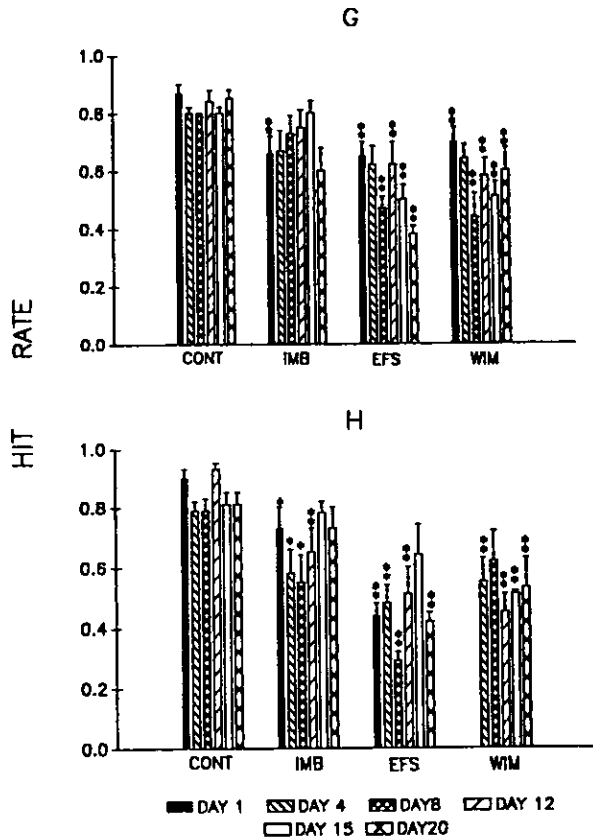


Fig. 4. Effects of immobilization (IMB), electric foot shocks (EFS) and water immersion (WIM) on the hit rate, during the first (G) and the second (H) ejaculatory series. Dunn test, compared to control (CONT) group. $p < .01$. * $p < .001$.

The total copulatory potential of males (ejaculatory frequency) (Sachs & Meisel, 1988) and the ejaculatory threshold (mainly reflected by ejaculation latency) were significantly modified by the EFS and WIM stressors. The motivational component of masculine sexual behavior (mainly reflected by mount latency (Sachs & Meisel, 1988) was also differentially affected. IMB, however, did not induce any effect in either parameter. In the EFS group, a discrete increase in mount latency was obtained only after 20 days of exposure to the stressor. On the other hand, the WIM group showed an increased mount latency during both acute (day 1) and chronic (days 15 and 20) phases. Data obtained from the average interintromission interval (an index of sexual motivation), are in accordance with this notion.

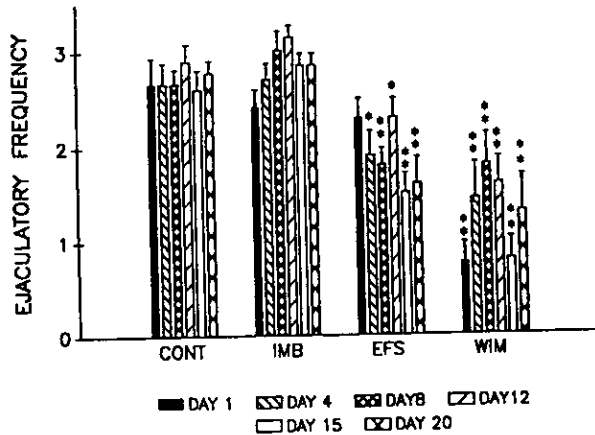


Fig. 5. Effects of immobilization (IMB), electric foot shocks (EFS) and water immersion (WIM) on ejaculatory frequency (number of ejaculations in 30 min). Dunn test, compared to control (CONT) group. $p < .01$. $p < .001$.

The increase in the number of mounts and the concomitant decrease of the hit rate induced by all the stressors suggested that motor copulatory events, resulting in intromission, were the most fragile parameters of male sexual behavior, although the effects of EFS or WIM were greater than those obtained by IMB.

It is well established that coordinated secretion of LH-RH, LH and T is required to stimulate masculine sexual behavior (Boyd & Moore, 1985; Phoenix & Chambers, 1990). In addition, several reports indicated that acute and chronic immobilization inhibited LH-RH, LH and T secretion. In the present study, however, IMB did not induce major changes in male sexual behavior. This could be due to the short duration of IMB in our study (2 h daily) in comparison to other studies (6 h daily) (López-Calderón et al., 1990; Norman & Smith, 1992).

It has been shown that acute stress by EFS or tail pinching (Meisel et al., 1980; Wang & Hull, 1980) has an immediate stimulatory effect on copulatory activity in male rats. In the present study, we did not observe any stimulatory effect in the first day. This might be due to the time elapsed between the application of the stressor and the recording of sexual behavior (1 h after EFS in this study). With this time, EFS produced an increase in mount frequency and a decrease in hit rate, and these effects became more pronounced across time (chronic effect).

The remarkable effects on masculine sexual behavior induced by WIM, both acutely as well as chronically, could be, at least partially, explained because this procedure involved the combination of two well-known stressors, cold and immersion. Thus, the observed effects must reflect additive components from the two stressful situations.

The alterations of reproductive behavior induced by stress might be related to the actions elicited by several hormones secreted during stressful situations, such as corticotrophin-releasing factor (CRF) (MacLusky et al., 1988), ACTH, beta-endorphin and glucocorticoids, on hypothalamic-pituitary-gonadal axis function (Doerr & Pirke, 1976; Rivier et al., 1986).

The infusion of CRF in the third ventricle of sexually experienced male rats elicited a suppression of sexual performance, characterized by an increase of mount, intromission and ejaculation latencies, as well as an increase in mount and intromission frequencies (Sirinathsinghi, 1987).

Concerning the possible participation of some neurotransmitter in the mediation of the effects of stress on masculine sexual behavior, it has been reported that 5-HT increases, while adrenalin decreases during chronic stress (Glavin, 1985; Pacak et al., 1992; Shanks et al., 1991). On the other hand, it is well known that 5-HT has an inhibitory effect on male sexual behavior (Bitran & Hull, 1987; Malmnas, 1973) and that adrenalin facilitates this same behavior (Clark & Smith, 1985; Kwong et al., 1986). Since 5-HT is increased during restraint stress (Shanks et al., 1991), while adrenalin decreases with chronic stress (Roth et al., 1982), the inhibitory effect of stress on male sexual behavior could be explained by the changes in the levels and turnover of these two neurotransmitters.

In summary, these results indicate that the effects of different stressors on male rat sexual behavior were not a non-specific generalized response. The specific characteristics of each stressful situation appeared to elicit different, but repeatable, specific inhibition of male sexual behavior.

Acknowledgements: The authors want to express their gratitude to Ms Edith Monroy Lopez for her professional advice in the editing of the manuscript. This work was partly supported by the DGICSA, grant number 911573 and by CONACYT, grant number D0245-N9201 and 400200-1703-M9207.

REFERENCES

- Albonetti ME, Farabollini F (1993) Effects of single and repeated restraint on the social behavior of male rats. *Physiol Behav* 53:937-942.
- Armario A, Lopez-Calderon A, Jolin T, Balasch J (1986) Response of anterior pituitary hormones to chronic stress. The specificity of adaptation. *Neurosci Biobehav Rev* 10:245-250.
- Barfield R, Sachs B (1968) Sexual behavior stimulation by painful electrical shock to skin in male rats. *Science* 161: 392-395.
- Beyer C, Contreras J, Morali G, Larsson K (1981) Effects of castration and sex steroid treatment on the motor copulatory pattern of the rat. *Physiol Behav* 27:727-730.
- Bitran D, Hull E (1987) Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 11:365-389.
- Boyd SK, Moore FL (1985) Luteinizing hormone-releasing hormone facilitates the display of sexual behavior in male voles (*Microtus canicaudus*). *Horm Behav* 19:252-264.
- Caggiula A (1972) Shock-elicited copulation and aggression in male rats. *J Comp Physiol Psychol* 80:393-397.
- Clark J, Smith E, Davidson J (1985) Evidence for the modulation of sexual behavior by α -adrenoceptors in male rats. *Neuroendocrinol* 41:36-43.
- Collu R, Gibb W, Ducharme J (1984) Effects of stressors on the gonadal function. *J Endocrinol Invest* 7:529-537.
- Collu R, Taché Y, Ducharme J (1979) Hormonal modifications induced by chronic stress in rats. *J Steroid Biochem* 11:989-1000.
- D'Aquila PS, Brain P, Willner P (1994) Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiol Behav* 56:861-867.
- Davidson J (1966) Activation of the male rat sexual behavior by intracerebral implantation of androgen. *Endocrinol* 79:783-794.
- De Wied D (1980) Pituitary-adrenal system hormones and behavior. In: Selye H (Ed) *Selye's Guide to Stress Research*, Vol 1. Van Nostrand Reinhold, New York, pp 252-279.
- Doerr P, Pirke K (1976) Cortisol-induced suppression of plasma testosterone normal adult males. *J Clin Endocrinol Metab* 43:622-629.

- Farabollini F, Lupo Di Prisco C, Carli G (1978) Changes in plasma testosterone and in its hypothalamic metabolism following immobility responses in rabbits. *Physiol Behav* 20:613-618.
- Glavin G (1985) Stress and brain noradrenaline: A review. *Neurosci Biobehav Rev* 9:233-243.
- Goldfoot D, Baum M (1972) Initiation of mating behavior in developing male rats following peripheral electric shock. *Physiol Behav* 8:857-863.
- Gray G, Smith E, Damassa D, Ehrenkranz J, Davidson J (1978) Neuroendocrine mechanisms mediating the suppression of circulating testosterone levels associated with chronic stress in male rats. *Neuroendocrinol* 25:247-256.
- Johnson E, Kamilaris T, Chrousos G, Gold P (1992) Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosci Biobehav Rev* 16:115-130.
- Kwong L, Smith E, Davidson J, Peroutka S (1986) Differential interactions of 'prosexual' drugs with 5-HT_{1A} and α -2 adrenergic receptors. *Behav Neurosci* 100:664-668.
- Larsson K (1963) Non-specific stimulation and sexual behaviour in the male rat. *Behaviour* 20:110-114.
- López-Calderón A, González-Quijano M, Tresguerres J, Ariznavarreta C (1990) Role of LH-RH in the gonadotrophin response to restraint stress in intact male rats. *J Endocrinol* 124:241-246.
- MacLusky N, Naftolin F, Leranath C (1988) Immunocytochemical evidence for direct synaptic connections between corticotrophin-releasing factor (CRF) and gonadotrophin releasing hormone (GnRH)-containing neurons in the preoptic area of the rat. *Brain Res* 439:391-395.
- Malmnas C (1973) Monoaminergic influence on testosterone activated copulatory behavior in the castrated male rat. *Acta Physiol Scand (Suppl)* 395:1-28.
- Malmnas C (1977) Short-latency effect of testosterone on copulatory behaviour and ejaculation in sexually experienced intact male rats. *J Reprod Fertil* 51:351-354.
- Meisel R, Lumia A, Sachs B (1980) Effects of olfactory bulb removal and flank shock on copulation in male rats. *Physiol Behav* 25:383-387.
- Menendez-Patterson A, Flores-Lozano J, Fernández S, Marín B (1978) Stress and sexual behavior in male rats. *Physiol Behav* 24:403-406.
- Mormède P, Lemaire V, Castanon N, Dulluc J, Laval M, Le Moal M (1990) Multiple neuroendocrine responses to chronic social stress: Interaction between individual characteristics and situational factors. *Physiol Behav* 47:1099-1105.
- Natelson B, Creighton D, McCarty R, Tapp W, Pitman D, Ottenweller J (1987) Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats. *Physiol Behav* 39:117-125.
- Norman R, Smith C (1992) Restraint inhibits luteinizing hormone and testosterone secretion in intact male Rhesus macaques: effects of concurrent naloxone administration. *Neuroendocrinol* 55:405-415.
- Pacak K, Armando I, Fukuhara K, Kvetnansky R, Palkovits M, Kopin I, Goldstein D (1992) Noradrenergic activation in the paraventricular nucleus during acute and chronic immobilization stress in rats: an in vivo microdialysis study. *Brain Res* 589:91-96.
- Phoenix CH, Chambers KC (1990) Sexual performance of old and young male Rhesus macaques following treatment with GnRH. *Physiol Behav* 47:513-517.
- Rabin D, Johnson E, Brandon D, Liapi C, Chrousos G (1990) Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine growth: possible role of the uterine estradiol. *Biol Reprod* 42:74-80.
- Rivier C, Rivier J, Vale W (1986) Stress induced inhibition of reproductive functions: Role of endogenous corticotropin-releasing factor. *Science* 231:607-609.
- Roth K, Mefford I, Barchas J (1982) Epinephrine, norepinephrine, dopamine and serotonin: differential effects of acute and chronic stress on regional brain amines. *Brain Res* 239:417-424.
- Sachs B, Meisel R (1988) The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E, Neil J (Eds) *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York, pp 1393-1485.
- Shanks N, Zalzman S, Zacharko R, Anisman H (1991) Alterations of central norepinephrine, dopamine and serotonin in several strains of mice following acute stressor exposure. *Pharmacol Biochem Behav* 38:69-75.
- Sharma O, Hays R (1974) Increasing copulatory behaviour in aging male rats with an electrical stimulus. *J Reprod Fertil* 39:111-113.
- Sirinathsinghji DJS (1987) Inhibitory influence of corticotropin releasing factor on components of sexual behaviour in the male rat. *Brain Res* 407:185-190.
- Taylor G, Weiss J, Rupich R (1987) Male rat behavior, endocrinology and reproductive physiology in a mixed-sex, socially stressful colony. *Physiol Behav* 39:429-433.

- Wang L, Hull E (1980) Tail pinch induces sexual behavior in olfactory bulbectomized male rats. *Physiol Behav* 24:211-215.
- Wilson J, Kuehn R, Beach F (1963) Modification in the sexual behavior of male rats produced by changing the stimulus female. *J Comp Physiol Psychol* 56:636-644.
- Zar JH (1984) *Biostatistical Analysis*, 2nd ed. Prentice-Hall, New Jersey, pp 199-201.



Lack of Effect of Corticosterone Administration on Male Sexual Behavior of Rats

S. RETANA-MARQUEZ, H. BONILLA-JAIME AND J. VELAZQUEZ-MOCTEZUMA¹

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

Received 23 January 1997; Accepted 2 September 1997

RETANA-MARQUEZ, S., H. BONILLA-JAIME AND J. VELAZQUEZ-MOCTEZUMA. *Lack of effect of corticosterone administration on male sexual behavior of rats.* *PHYSIOL BEHAV* 63(3) 367-370, 1998.—The increase in plasma levels of corticosteroids as part of the stress response has been associated with failure in the reproductive function in most vertebrate species, both in females and males. Recently, we have shown that male sexual performance in rats is readily affected by different stressors, both acutely and chronically applied. However, there are few reports that directly correlate the increase in corticosteroid levels with the behavioral effects of stress. In this study we investigated whether the administration of corticosterone, either acutely or chronically, could reproduce the effects of stress on male sexual behavior in the male rat. Four doses of corticosterone (0.5, 1, 2, and 4 mg) or the vehicle, were administered during four consecutive days to sexually experienced males. Male sexual behavior was assessed after the first and the fourth injection. After the last test, males were killed and levels of corticosterone and testosterone were measured by HPLC. We observed an increase in corticosterone plasma levels in a dose-dependent manner. None of the sexual behavior parameters, however, was modified. Plasma levels of testosterone were not modified by corticosterone administration. Both steroids were increased in response to sexual activity, though. These data show that, unlike amphibians and female mammals, corticosteroids do not alter sexual behavior in male rats and suggest that the effect of stress on male sexual behavior cannot be explained by increases in corticosterone. © 1998 Elsevier Science Inc.

Stress Sexual behavior Corticosterone Testosterone

FOR many years, the stress response induced by physical or emotional challenges has been recognized as a profound disruptive factor in reproductive function in both males and females. Males may exhibit suppression of testosterone secretion (5), spermatogenesis (21), as well as marked alterations of sexual behavior (27). Sexual performance has been considered the most vulnerable aspect of male reproduction because it could readily be affected by acute exposure to one stressor (15,22).

Alteration of the reproductive process has been attributed to the secretion of several hormones as part of the stress response, such as corticotropin releasing hormone (CRH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), β -endorphins, and glucocorticoids (8,11,23,24,29,31). High plasma levels of corticosteroids are known to be associated with depression of circulating androgen concentrations and social behaviors in a number of vertebrate species and in several situations of stress such as exercise, social stress, and others (14,17,19,26,30). In fact, the administration of corticosterone to male amphibians results in an inhibition of courtship behavior (17). Some studies support the hypothesis that adrenal hormones released during stress may be capable of blocking the action of estrogen in eliciting normal

sexual behavior in the stressed female in different mammalian species (7,9,10,15). However, there are no reports about the effects of corticosteroids on sexual behavior in male mammals. In this work we studied the effect of the administration of exogenous corticosterone on testosterone plasma levels as well as on male sexual performance in the male rat.

MATERIALS AND METHODS

Sexually experienced male Wistar rats, weighing 300–350 g were housed (five per cage) under constant temperature and humidity conditions. The vivarium was maintained on a 12 dark/12 light reverse cycle (lights off at 900 hours). Food and water were available ad lib. Rats were randomly assigned to one of the following groups ($n = 10$) and treatments with corticosterone: A, 0.5 mg; B, 1 mg; C, 2 mg; D, 4 mg; E, vehicle. Daily injections were given subcutaneously (s.c.) during 4 days, and male sexual behavior was assessed 4 h after the first and the fourth injection. To assess the effect of the chronic administration of corticosterone, an additional group ($n = 10$) received daily injections of 2 mg of corticosterone during 8 days before sexual behavior evaluation.

¹To whom correspondence should be addressed.

The evaluation was performed under dim red light illumination. The tests were done within a 3-h period that starts 1 h after the onset of the dark phase of the cycle. Male sexual behavior was assessed by placing the male in a Plexiglas arena (45 cm in diameter) 5 min before a stimulus-receptive female was presented. Ovariectomized female rats were brought into sexual receptivity by sequential treatment with estradiol benzoate (5 µg/0.1 mL oil, s.c.) and progesterone (2 mg s.c.) 44 h later. After the introduction of the female, tests lasted 30 min. The following sexual parameters were recorded: mount, intromission, and ejaculation latencies and frequencies, postejaculatory interval. The full description of male sexual parameters has been detailed elsewhere (25). An additional group ($n = 10$) without the sexual behavior test was used as a control of plasma levels of corticosterone. After the last behavioral test, males were killed by decapitation and trunk blood was collected. Corticosterone and testosterone were extracted from plasma and quantified by HPLC using a modification of the method reported by Woodward and Emery (32). Blood samples were centrifuged and plasma (1 mL) was mixed with 100 µL 19-nortestosterone solution (5 µg/mL in methanol) as an internal standard. Corticosteroids were extracted into 5-mL diethyl ether-dichloromethane (60:40 v/v) by vortex mixing and immediately centrifuged for 5 min. Supernatant was vortex mixed with 1 mL HPLC-grade water. After centrifugation, supernatant (3 mL) was evaporated at room temperature under nitrogen. The residue was redissolved in 100 µL of methanol-water (55:45 v/v). The column was equilibrated using HPLC-grade methanol and water (55:45 v/v) at a flow-rate of 1 mL/min. Separations were made at ambient temperature and the eluate was monitored by UV detection at 250 nm.

Statistical Analysis

Corticosterone and testosterone data were computed with ANOVA followed, when significant, by Tukey's test for comparison between groups. The level of significance was fixed at $p < 0.05$. Masculine sexual behavior data were analyzed by nonparametric Kruskal-Wallis ANOVA, followed when significant by Dunn's test.

RESULTS

Acute and chronic administration of different doses of corticosterone during 4 consecutive days caused an increase in plasma levels of corticosterone in a dose-dependent manner, compared with the control group, injected with oil ($df = 5, 55; F = 37.79; p < 0.00001$) (Fig. 1). Unexpectedly, sexually experienced males that received oil injections and were tested for sexual behavior showed an increase in the plasma levels of corticosterone when compared with control males that were not tested for sexual behavior ($df = 5, 55; F = 37.79; p < 0.00001$). However, despite the increasing levels of corticosterone, male sexual behavior in sexually experienced males was not significantly altered neither after the first injection nor after four consecutive daily injections (Table 1). None of the sexual parameters were significantly modified by any of the doses of corticosterone at any of the days of testing (including 2 mg for 8 days), compared with the control group.

Regarding the plasma levels of testosterone, chronic administration of corticosterone did not induce a significant effect on this sexual steroid ($df = 4, 46; F = 1.4; NS$, the sexual untested group was not included), although it tended to increase with the administration of the higher dose of corticosterone (Fig. 2). Similar to corticosterone, the levels of testosterone increased in response to

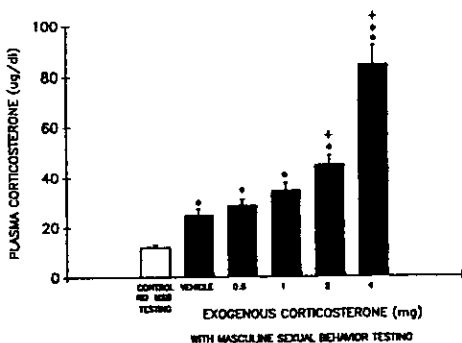


FIG. 1. Plasma levels of corticosterone after the administration of several doses of exogenous corticosterone in male rats tested for sexual behavior. One-way ANOVA followed by Tukey's test: compared with control males without sexual testing*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; compared with vehicle control males +, $p < 0.05$. Data are expressed as mean \pm SEM.

sexual activity (compared to males without behavioral testing: $df = 5, 55; F = 10.76; p < 0.05$).

DISCUSSION

Several studies in monkeys and rats report that social stress is capable of inhibiting copulation in the subordinate males (13,16), and these animals show high levels of corticosterone associated with low levels of testosterone (16). The suppression of testosterone and male sexual behavior has been attributed to increased levels of corticosteroids as part of the stress response (1,2,3,18) or to the direct administration of corticosteroids (17). However, the present results do not support this notion, because even the highest dose administered, which induced a marked rise of plasma levels of corticosterone, was not capable of modifying any of the parameters of male sexual behavior nor the plasma levels of testosterone.

In previous studies, we have reported that stress by immobilization, immersion in cold water, or by electric foot shock, interferes with male sexual performance and the magnitude of the alteration is dependent on the nature of the stressor (22). One plausible mechanism to explain the effects of stress on male sexual behavior is that the increase in the levels of corticosteroids could be inhibiting this behavior both directly and indirectly through a decrease in testosterone. However, the data obtained in this study that the effects of stress on sexual behavior cannot be explained by the intermediation of high levels of corticosterone, or by the decrease in testosterone caused by corticosterone.

In addition, it has been reported that the infusion of CRH in the III ventricle induced a dose-dependent suppression of masculine sexual behavior. These effects were blocked by the simultaneous administration of naloxone (28), suggesting that CRH affects sexual behavior through an opioid pathway. On the other hand, it is well known that CRH is released during stressful experiences and acts not only as a releasing hormone, but as a neurotransmitter in several extrahypothalamic areas [for review

TABLE I
MALE SEXUAL BEHAVIOR PARAMETERS OBTAINED AFTER SEVERAL DOSES OF EXOGENOUS CORTICOSTERONE

	Masculine Sexual Parameters						
	Mount Latency (s)	Intramission Latency (s)	Ejaculation Latency (s)	Mount Frequency	Intramission Frequency	Ejaculation Frequency	Postejaculatory Period (s)
Vehicle							
4 h	9.4 ± 0.3	19.7 ± 6.3	385.0 ± 45.0	5.2 ± 1.6	9.4 ± 3.6	3.2 ± 0.4	335.1 ± 12.1
4 Days	15.8 ± 5.9	14.7 ± 6.5	305.6 ± 51.0	3.8 ± 1.2	7.6 ± 1.1	3.2 ± 0.4	338.0 ± 11.2
Cortic							
0.5 mg							
4 h	7.2 ± 0.7	18.7 ± 4.8	389.0 ± 49.0	6.7 ± 1.2	10.5 ± 2.8	3.1 ± 0.3	385.8 ± 23.1
4 Days	9.1 ± 1.4	15.5 ± 4.2	401.0 ± 38.0	4.9 ± 2.3	9.3 ± 1.4	3.2 ± 0.3	373.0 ± 13.6
1 mg							
4 h	9.4 ± 2.5	15.9 ± 2.9	376.0 ± 59.2	4.2 ± 1.7	8.7 ± 1.7	3.0 ± 0.4	363.4 ± 32.3
4 Days	5.2 ± 4.0	16.9 ± 6.4	354.0 ± 42.0	5.5 ± 3.6	10.8 ± 0.9	3.1 ± 0.2	350.0 ± 26.8
2 mg							
4 h	9.7 ± 1.9	19.5 ± 4.1	297.0 ± 54.7	2.5 ± 1.7	7.4 ± 1.0	3.1 ± 0.3	359.0 ± 34.9
4 Days	13.8 ± 2.9	27.7 ± 9.4	312.8 ± 27.2	3.2 ± 1.4	8.7 ± 0.6	3.1 ± 0.1	384.0 ± 38.5
8 Days	12.0 ± 4.2	22.8 ± 6.2	293.0 ± 46.1	3.7 ± 1.3	10.1 ± 1.4	3.3 ± 0.4	378.0 ± 30.1
4 mg							
4 h	11.4 ± 1.3	18.1 ± 3.1	378.0 ± 51.0	4.1 ± 1.2	8.8 ± 0.9	2.9 ± 0.3	374.0 ± 26.6
4 Days	10.3 ± 1.8	17.2 ± 3.3	293.0 ± 68.0	4.0 ± 1.5	9.6 ± 0.6	3.0 ± 0.1	338.0 ± 15.2

None of the doses induced any significant change.

see (12)]. Considering these antecedents and the present results, it is possible that the effects of stress on male sexual behavior could be explained by the participation of CRH acting through an opioid pathway and/or as a neurotransmitter in extrahypothalamic areas rather than through the increase of corticosterone release.

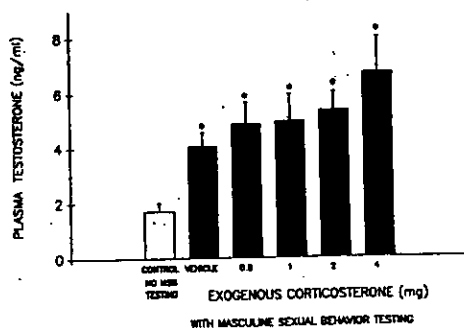


FIG. 2. Plasma levels of testosterone after the administration of several doses of exogenous corticosterone in male rats tested for sexual behavior. One-way ANOVA followed by Tukey test compared with control group with no masculine sexual behavior testing. *, $p < 0.05$. Data are expressed as mean ± SEM.

The present data differ from observations made in male amphibians that report inhibition of male sexual behavior and a decrease of testosterone levels with the administration of corticosterone (17). The present results may indicate that corticosterone may not be as important in mammals as in amphibians in the mediation of the effects of stress on sexual behavior. The results reported here are also different from those reported for female rats, in which the administration of corticosterone or dexamethasone is capable of inhibiting female sexual behavior (7), which may indicate sex differences in the sensitivity and response to corticosterone. In the present study, even high doses of corticosterone administered during 8 days failed to exert any modification on male sexual performance.

Our results also show that sexual activity per se is capable of significantly increasing plasma levels of both corticosterone and testosterone in male rats. This finding is consistent with other studies which report an increase in these steroids after sexual activity in amphibians (20), stallions (4), and mice (6). The reason for these increments, has been claimed to be due to social interactions, which could be of a competitive and aggressive nature, in the case of amphibians and mice (6,20). For stallions, however, it has been suggested that the physical component of sexual excitement may be the main factor for the increase in corticosteroids plasma levels (4). However, the reason for these increments and the mechanisms through which stress alters male sexual performance in rats remains to be elucidated.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors want to express their gratitude to Ms Edith Monroy for her expert advice in the revision of the text. This work was partly supported by CONACYT, grants 400 200-1703-m9207 and 400 200 1789P-M9507.

REFERENCES

- Abbott, D. H. Behavioral and physiological suppression of fertility in subordinate marmoset monkeys. *Am. J. Primatol.* 6:169-186; 1984.
- Baumbino, T. H.; Hsueh, A. J. Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis in vivo and in vitro. *Endocrinology* 108:2142-2148; 1981.
- Christian, J. J.; Davis, D. E. *Endocrines, behavior and populations*. Science 146:1550-1560; 1964.
- Colborn, D. R.; Thompson, D. L.; Capehart, J. J.; White, K. L. Responses of cortisol and prolactin to sexual excitement and stress in stallions and geldings. *J. Anim. Sci.* 69:2556-2562; 1991.
- Collu, R.; Gibb, W.; Ducharme, G. R. Effects of stress on the gonadal function. *J. Endocrinol. Invest.* 7:529-537; 1985.
- Craigie, W.; Bronson, F. H. Deterioration of the capacity for sexual arousal in aged male mice. *Biol. Reprod.* 26:869-874; 1982.
- De Cantazaro, D.; Gorzalka, B. B. Effects of dexamethasone, corticosterone and ACTH in lordosis in ovariectomized and adrenalectomized-ovariectomized rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 12:201-206; 1980.
- Doerr, P.; Pirke, K. M. Cortisol-induced suppression of plasma testosterone in normal adult males. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:622-629; 1976.
- Everitt, B. J.; Herbert, J. The effects of dexamethasone and androgens on sexual receptivity of female rhesus monkeys. *J. Endocrinol.* 51:575-588; 1971.
- Ford, J. J.; Christensen, R. K. Glucocorticoid inhibition of estrus in ovariectomized pigs: Relationship to progesterone action. *Horm. Behav.* 15:427-435; 1981.
- Hagino, N.; Watanabe, M.; Goldzieher, J. W. Inhibition by adrenocorticotrophin of gonadotrophin-induced ovulation in immature female rats. *Endocrinology* 84:308-314; 1969.
- Hayden-Hixson, D. M.; Nemeroff, C. B. Role(s) of neuropeptides in responding and adaptation to stress: A focus on corticotropin-releasing factor and opioid peptides. In: *Stanford S.C.; Salmon P., eds. Stress: From synapse to syndrome*. London: Academic Press Ltd.; 1993:355-391.
- Keene, E. B. Sexual and aggressive behavior in social groups of talapoin monkeys. *Ciba Found. Symp.* 62:271-286; 1979.
- Kime, K. E.; Vinson, G. P.; Majur, P. W.; Kilpatrick, R. Adrenal-gonadal relationships. In: *Chester-Jones, I.; Henderson I. W., eds. General comparative and clinical endocrinology of the adrenal cortex*, volume III. New York: Academic Press; 1980:183-264.
- Moberg, G. P. Influence of stress on reproduction: Measure of well-being. In: *Moberg, G.P., ed. Animal stress*. Bethesda, MD: American Physiology Society; 1985:245-268.
- Monder, C.; Sakai, R. R.; Mirroff, Y.; Blanchard D. C.; Blanchard R. J. Reciprocal changes in plasma corticosterone and testosterone in stressed male rats maintained in a visible burrow system: Evidence for a mediating role of testicular 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Endocrinology* 134:1193-1198; 1994.
- Moore, F. L.; Miller, L. J. Stress-induced inhibition of sexual behavior: Corticosterone inhibits courtship behavior of a male amphibian (*Taricha granulosa*). *Horm. Behav.* 18:400-410; 1984.
- Nock, B. L.; Leshner, A. I. Hormonal mediation of the effects of defeat on agonistic responding in mice. *Physiol. Behav.* 17:111-119; 1976.
- Nowell, N. W. Adrenocortical function in relation to mammalian population densities and hierarchies. In: *Chester-Jones, I.; Henderson, I. W., Eds. General comparative and clinical endocrinology of the adrenal cortex*, volume III. New York: Academic Press; 1980:349-393.
- Orchinik, M. P.; Licht, M. P.; Crews, D. Plasma steroid concentrations change in response to sexual behavior in *Bufo marinus*. *Horm. Behav.* 22:338-350; 1988.
- Rabin, D.; Gold, P. W.; Margioris, A. N.; Chrousos, G. P. Stress and reproduction: Physiologic interactions between the stress and reproductive axes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 245:377-387; 1988.
- Retana-Marquez, S.; Dominguez-Salazar E.; Velazquez-Moctezuma J. Effect of acute and chronic stress on masculine sexual behavior in the rat. *Psychoneuroendocrinology* 21:39-50; 1996.
- Rivier, C.; Rivier, J.; Vale, W. Stress-induced inhibition of reproductive functions: Role of endogenous corticotropin-releasing factor. *Science* 231:607-609; 1986.
- Rivier, C.; Vale, W. Influence of corticotropin-releasing factor on reproductive functions in the rat. *Endocrinology* 114:914-921; 1984.
- Sachs B. D.; Meisel R. L. The physiology of male sexual behavior. In: *Knobil E.; Neil J., eds. The physiology of reproduction*. New York: Raven Press; 1988:1393-1395.
- Sapolsky, R. M. Stress, social status, and reproductive physiology in free-living baboons. In: *Crews, D., ed. Psychobiology of reproductive behavior*. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall; 1987:291-332.
- Sapolsky, R.; Krey, L. C.; McEwen, B. S. The neuroendocrinology of stress and aging: The glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocrine Rev.* 7:622-629; 1976.
- Sirinathsinghji, D. J. Inhibitory influence of corticotropin releasing factor on components of sexual behavior in the male rat. *Brain Res.* 407:185-190; 1987.
- Sirinathsinghji, D. J. S.; Rees, L. H.; Rivier, J.; Vale, W. Corticotropin-releasing factor is a potent inhibitor of sexual receptivity in the female rat. *Nature* 305:232-235; 1983.
- Tokarz, R. R. Effects of corticosterone treatment on male aggressive behavior in a lizard (*Anolis sagrei*). *Horm. Behav.* 21:358-370; 1987.
- Vreburgh, J. T.; De Greef, W. J.; Goms, M. P.; Van Wouw, P.; Weber, R. F. A. Effects of adrenocorticotropin and corticosterone on the negative feedback action of testosterone in the adult male rat. *Endocrinology* 115:977-983; 1984.
- Woodward, C. H.; Emery, P. Determination of plasma corticosterone using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 419:280-284; 1987.