

## Comparación de la sertralina y del extracto metanólico de *Psilocybe Cubensis* sobre la calidad espermática en un modelo de depresión inducido por estrés temprano en ratas

C. Galicia-Ramírez<sup>a</sup>, E. Ruíz-Luna<sup>a</sup>, A. Rodríguez-Rubí<sup>b</sup>, G. Hernández-Carballo<sup>a</sup>,  
U. Quiroz-López<sup>b</sup>, R. Reyes-Luna<sup>c</sup>, and J. Flores-Hernández<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Neuromodulación, Instituto de Fisiología,  
Benemérita Universidad Autónoma Puebla.

<sup>b</sup>Laboratorio de Histofisiología, Facultad de Ciencias Biológicas,  
Benemérita Universidad Autónoma Puebla.

<sup>c</sup>Laboratorio de Reproducción, Facultad de Ciencias Biológicas,  
Benemérita Universidad Autónoma Puebla.

e-mail: uquiroz@yahoo.com.mx

Received 9 September 2019; accepted 19 March 2020

La depresión es un problema de salud mundial. La sertralina, un antidepresivo de uso común, puede ocasionar efectos secundarios en la fertilidad. El tratamiento con alucinógenos, por ejemplo, la psilocibina, se considera un procedimiento alternativo para tratar la depresión. El objetivo de este trabajo fue comparar los efectos de la administración sub-crónica del extracto metanólico de *P. cubensis* o de sertralina sobre la calidad espermática de ratas macho. Treinta ratas machos Sprague-Dawley se distribuyeron en cinco grupos ( $n = 6$ ). Un grupo testigo absoluto (TA) de animales no separados de la madre; animales separados de la madre (Vetulani, 2013; DEP); medicados diariamente con sertralina (5 mg/kg; DEP+SERT); administrados con extracto metanólico de *P. cubensis* (0.1 mg/kg; DEP+EXTR); y con solución salina + 1 % de Tween 80 como vehículo (DEP+VH). La administración se realizó desde el día 45 de edad y hasta el día 60. Los animales fueron sacrificados a los seis meses de edad. Se disecaron los epidídimos y se obtuvieron espermatozoides de la cola. Se cuantificó el número total y la viabilidad de los espermatozoides, así como el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva rápida, lenta, in situ e inmóviles. La concentración ( $F = 1.25624$ ;  $p = 0.3133$ ), el porcentaje de viabilidad ( $F = 0.96249$ ;  $p = 0.44528$ ), de inmovilidad ( $F = 2.31662$ ;  $p = 0.08509$ ), y de motilidad progresiva lenta ( $F = 0.09148$ ;  $p = 0.98428$ ) de los espermatozoides no mostraron diferencias significativas entre grupos. La prueba de comparación de medias de Tukey arrojó que el porcentaje de motilidad progresiva rápida en SERT es menor con respecto a TA ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.04166$ ), y EXTR ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.01971$ ). Además, el porcentaje de espermatozoides in situ en EXTR es más bajo con respecto VH ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.00348$ ), y TA ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.00619$ ). Nuestros resultados sugieren que el uso del extracto metanólico de *P. Cubensis* no afecta los parámetros de fertilidad a diferencia de la sertralina que afecta principalmente la motilidad.

*Descriptor:* Sertralina; Sprague-Dawley.

Depression is a global health problem. Sertraline, a commonly used antidepressant, can cause side effects on fertility. Hallucinogen treatment, for example, psilocybin, is considered an alternative procedure to treat depression. The objective of this work was to compare the effects of sub-chronic administration of the methanolic extract of *P. cubensis* or sertraline on the sperm quality of male rats. Thirty male Sprague-Dawley rats were distributed into five groups ( $n = 6$ ). An absolute control group (AT) of animals not separated from the mother; animals separated from the mother (Vetulani, 2013; DEP); medicated daily with sertraline (5 mg/kg; DEP+SERT); administered with methanolic extract of *P. cubensis* (0.1 mg/kg; DEP+EXTR); and with saline + 1 % Tween 80 as vehicle (DEP+VH). The administration was carried out from the 45th day of age until the 60th day. The animals were sacrificed at six months of age. The epididymides were dissected and sperm were obtained from the tail. The total number and viability of the sperm were quantified, as well as the percentage of sperm with fast, slow, in situ, and immobile progressive motility. The concentration ( $F = 1.25624$ ;  $p = 0.3133$ ), the percentage of viability ( $F = 0.96249$ ;  $p = 0.44528$ ), immobility ( $F = 2.31662$ ;  $p = 0.08509$ ), and slow progressive motility ( $F = 0.09148$ ;  $p = 0.98428$ ) of the sperm did not show significant differences between groups. Tukey's mean comparison test showed that the percentage of rapid progressive motility in SERT is lower with respect to TA ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.04166$ ), and EXTR ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.01971$ ). Furthermore, the percentage of sperm in situ in EXTR is lower with respect to VH ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.00348$ ), and TA ( $\alpha = 0.05$ ;  $p = 0.00619$ ). Our results suggest that the use of *P. Cubensis* methanolic extract does not affect fertility parameters, unlike sertraline, which mainly affects motility.

*Keywords:* Sertraline; Sprague-Dawley.

### 1. Introducción

La depresión es un problema de salud mundial. En el 2015, el número de personas con depresión excedió los 300 millones. Las consecuencias de este desorden en términos de pérdida de salud son enormes. La depresión es catalogada por la OMS (Organización Mundial de la Salud) como la mayor

causa de discapacidad global, y como el mayor contribuyente a las muertes por suicidio, alrededor de 800 000 por año. Las tasas de prevalencia alcanzan un máximo en la edad adulta; también ocurre en niños y adolescentes menores de 15 años, pero a un nivel más bajo que los grupos de mayor edad [1].

Existe una gama amplia de fármacos para tratar la depresión. Se ha reportado que la sertralina, un antidepresivo

de uso común, actúa como un inhibidor de la recaptura de serotonina atenuando la depresión. No obstante, se ha reportado que puede ocasionar efectos secundarios en la fertilidad, tales como la disminución en el recuento de espermatozoides acompañado por un aumento en la morfología anormal de los mismos, el daño al ADN y la degeneración en las estructuras celulares tubulares [2].

La combinación de factores familiares, sociales, psicológicos y biológicos pueden favorecer el desarrollo de la depresión, aunque esta condición también puede surgir a partir de enfermedades físicas, o alteraciones en el hipotálamo [3]. Si bien se trata de una condición multifactorial, algunos de los síntomas depresivos pueden estudiarse en roedores tales como la anhedonia y el estrés a través de la desesperación conductual en modelos animales generados por medio de la separación materna [4,5].

Recientemente se ha propuesto el uso de alucinógenos, entre ellos, la psilocibina como procedimiento alternativo para tratar la depresión en pacientes con cáncer terminal. Se observó un efecto terapéutico que perduró hasta seis meses con acompañamiento psicológico [6]. A menudo el consumo de hongos pertenecientes al género *Psilocybe* no tiene repercusiones en la salud del consumidor. Sin embargo, recientemente se reportó un cuadro clínico de sintomatología de lesión aguda renal presuntamente debido al consumo de *P. cubensis* [7]. Por otra parte, se desconoce si la psilocibina tiene efectos secundarios sobre la calidad espermática, por lo que resulta de gran importancia contar con tratamientos antidepressivos no sólo eficaces, sino también sin efectos secundarios.

## 2. Hipótesis

Si se administran el extracto metanólico de *P. cubensis* y de sertralina en ratas macho de un modelo de depresión por estrés temprano, entonces el efecto en los parámetros de fertilidad será distinto.

## 3. Objetivo

Comparar los efectos de la administración sub-crónica del extracto metanólico de *P. cubensis* y de sertralina sobre la calidad espermática de ratas macho.

## 4. Metodología

Treinta ratas macho de la cepa Sprague-Dawley siguieron el protocolo de separación materna desde el día postnatal uno hasta el día posnatal 22 durante 180 minutos diariamente [4]. Posteriormente, se distribuyeron en cinco grupos ( $n = 5$ ), como siguen: un grupo testigo absoluto de animales no separados de la madre (TA); animales separados de la madre sin ningún tipo de administración (DEP); animales separados de la madre y medicados diariamente con 5 mg/kg de sertralina (DEP+SERT); animales separados de la madre administrados

diariamente con 0.1 mg/kg del extracto metanólico de *Psilocybe cubensis* (DEP+EXTR); y, finalmente, animales separados de la madre administrados con solución salina + 1 % de Tween 80 como vehículo (DEP+VH). La administración se realizó desde el día 45 y hasta el día 60 de edad.

Se realizó un ensayo cualitativo para demostrar la presencia de psilocina y psilocibina en el extracto metanólico de *P. cubensis*. Sin embargo, no conocemos con exactitud todos los componentes ni su concentración, por lo cual, se abre una nueva línea de investigación para ahondar más en el estudio molecular del extracto.

Con respecto al diseño experimental, los animales fueron sacrificados a los seis meses de edad por sobredosis de anestesia (Admón. i.p. Pentobarbital sódico). Se obtuvieron espermatozoides por perfusión de la cola del epidídimo con 3 mL de solución Hartman y se mantuvieron a 37°C hasta su análisis. Se procesaron dos muestras por individuo, correspondientes a los epidídimos de cada lado (derecho e izquierdo). Para el análisis espermático se siguió la metodología indicada en el manual para el análisis de semen humano bajo parámetros establecidos por la OMS [8].

### 4.1. Motilidad espermática

Primeramente, se evaluó la motilidad espermática colocando una alícuota de 10  $\mu\text{L}$  de muestra sobre un portaobjetos y cubriéndola con un cubreobjetos de 22  $\times$  22 mm, una vez enfocada la muestra bajo el objetivo 40 $\times$  de un microscopio óptico modelo primo star (Carl Zeiss) se contaron más de 200 espermatozoides y se clasificaron en motilidad A (progresiva), esta a su vez en AR (motilidad progresiva rápida) y AL (motilidad progresiva lenta), motilidad B (no progresiva o in situ) y motilidad C (inmóvil).

### 4.2. Concentración espermática

Finalmente, para el análisis de la concentración espermática se colocó 10  $\mu\text{L}$  de muestra sobre un portaobjetos y cubriéndola con un cubreobjetos de 22  $\times$  22 mm se contaron los espermatozoides de tres campos completos dentro de la muestra. Después se obtuvo el promedio de dicho conteo para preparar una muestra secundaria con ayuda de las tablas de referencia para el conteo de espermatozoides del manual basado en la OMS. En esta segunda muestra, se diluyó parte de la muestra con diluyente Weimman, de este modo se aseguró que ningún espermatozoide presentara motilidad. Por último, se colocó 10  $\mu\text{L}$  de la muestra secundaria en una cámara de Neubauer de doble retículo (Marienfeld Superior) para el conteo de los espermatozoides en las cuadrículas centrales; el conteo total de las dos cámaras (CT) y los valores obtenidos a lo largo de este procedimiento se usaron para obtener el factor de conversión (FC). Con estos valores y con ayuda de las tablas proporcionadas por el manual se obtuvo el número de espermatozoides usando la siguiente fórmula:  $((\text{CT}/2)/\text{FT})/3$ . Los datos fueron analizados estadísticamente a través del programa R<sup>®</sup>.

## 5. Resultados

Los datos nos mostraron una distribución normal y por la  $n$  utilizada se procedió a usar pruebas estadísticas no paramétricas. Se presentan los valores de  $\chi^2$  como estadístico de asociación entre variables. Los resultados de la prueba Kruskal-Wallis muestran que el número ( $p = 0.539$ ), el porcentaje de viabilidad ( $p = 0.504$ ), de motilidad progresiva lenta ( $p = 0.693$ ) y rápida ( $p = 0.038$ ) de los espermatozoides no mostraron diferencias significativas entre grupos.

Con respecto al porcentaje movilidad total de espermatozoides (Fig. 1;  $\chi^2 = 10.961$ ,  $p = 0.027$ ), se encontró que en ratas deprimidas la administración de sertralina provoca una

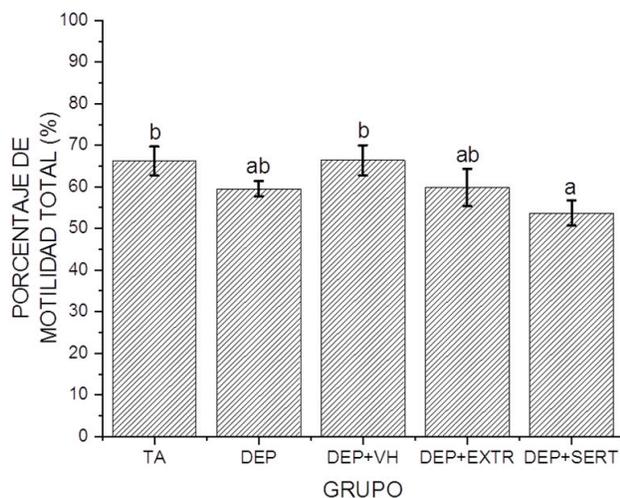


FIGURA 1. Porcentaje de motilidad espermática total. El análisis Kruskal-Wallis junto con la prueba de Dunn, sugieren que la concentración de espermatozoides fue menor en los animales administrados con sertralina con respecto a las ratas sanas ( $p = 0.0233$ ) y los animales deprimidos tratados con solución salina ( $p = 0.0213$ ).

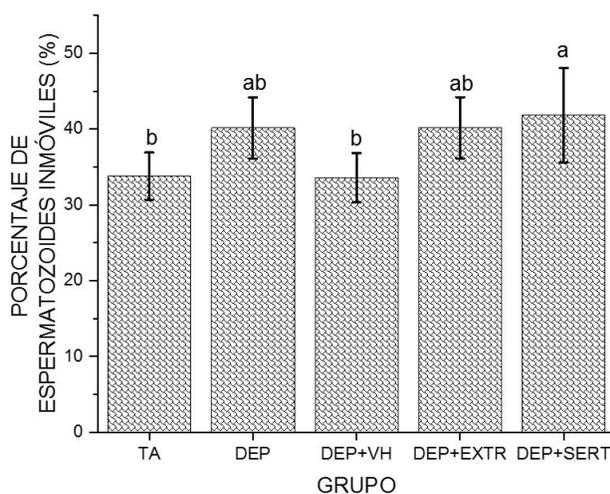


FIGURA 2. Porcentaje total de espermatozoides inmóviles. El análisis Kruskal-Wallis junto con la prueba de Dunn, demuestran que en DEP+SERT el porcentaje es mayor con respecto a DEP+VH ( $p = 0.027$ ), y con TA ( $p = 0.033$ ).

disminución del porcentaje de motilidad total de espermatozoides con respecto a las ratas que no sufrieron el protocolo de separación materna ( $p = 0.033$ ) y con los animales deprimidos y administrados con solución salina ( $p = 0.0213$ ).

En la Fig. 2 ( $\chi^2 = 10.1596$ ,  $p = 0.04$ ), se observa que el porcentaje de inmovilidad espermática en los animales deprimidos medicados con sertralina es mayor con respecto a los animales deprimidos administrados con solución salina ( $p = 0.027$ ), y en comparación con los animales que no pasaron por el protocolo de separación materna ( $p = 0.033$ ). El análisis realizado, no sugiere diferencias entre los grupos TA y DEP+EXTR ( $p = 0.16$ ).

## 6. Discusión

El análisis de datos sostiene que los animales del grupo DEP+SERT, presentaron un aumento de espermatozoides inmóviles, aún mayor que los animales deprimidos sin una administración efectiva. Estos resultados son consistentes con lo reportado por otros autores donde la motilidad espermática se ve disminuida tras la administración de sertralina en ratones, así como de los niveles séricos de LH y testosterona [9], hormonas importantes en la regulación de la espermatogénesis.

Estos efectos podrían ser consecuencia de alteraciones en el sistema serotoninérgico, ya que se sabe que estructuras como las vías aferentes del sistema reproductor, el epidídimo, células de Sertoli y Leydig, poseen receptores afines a este neurotransmisor [10,11]. Esta condición los hace susceptibles de ser afectados por inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, como la sertralina, alterando su funcionamiento normal [13]. Se han reportado alteraciones en la morfología del testículo de ratones con tratamiento farmacológico de sertralina [13], además de los parámetros de dispersión de la cromatina, viabilidad y morfología espermática en hombres con un tratamiento con este antidepresivo [14].

Adicionalmente, el estado depresivo causado por la separación materna a una edad temprana es motivo de estrés psicológico, el cual podría representar otro factor importante que repercuta en la calidad espermática, dado que se ha mostrado que disminuye los niveles de testosterona [15]. En la rata intacta la administración de sertralina provoca hipogonadismo mediante una disminución en la esteroidogénesis. Interesantemente después se presenta una respuesta compensatoria a través de un incremento en los niveles de la LH [16], lo que nos permite plantear la posibilidad de que la respuesta neuroendocrina ante la administración de la sertralina es diferente en el animal deprimido en comparación al intacto.

La presente investigación evidencia que la administración del extracto metanólico de *P. cubensis* en ratas deprimidas disminuye la alta concentración de espermatozoides *in situ*, es decir, hay un efecto de recuperación. Sin embargo, la relación entre el sistema serotoninérgico y el desarrollo reproductivo de ratas macho es poco explorada. Son necesarios estudios más profundos para dilucidar la interacción de estos

dos componentes, y más aún qué mecanismos activa o potencia el extracto de *P. cubensis* involucrados en la calidad espermática. También se requieren más estudios para descartar que el extracto de *Psilocybe cubensis* no afecta el eje neuroendocrino hipotálamo-hipófisis-testículos.

## 7. Conclusión

Nuestros resultados sugieren que, en el modelo en rata con inducción a depresión por restricción materna, la administración del extracto metanólico de *Psilocybe cubensis* tiene un efecto de mejora al disminuir el porcentaje de espermatozoides in situ. En contraste con el tratamiento con sertralina que disminuye significativamente la motilidad del espermatozoide en ratas deprimidas.

1. World Health Organization, *Depression and other common mental disorders: global health estimates*, (World Health Organization, Geneva, 2017), pp. 4-17.
2. O. Atli, *et al.*, Sertraline-induced reproductive toxicity in male rats: evaluation of possible underlying mechanisms, *Asian Journal of Andrology* **19** (2017) 672. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.192637>
3. S. C. Andrey y F. T. Jaime, Neurobiología de la depresión *Rev. Mex. Neuroc.* **10** (2009) 462.
4. J. Vetulani, Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition, *Pharmacological Reports* **65** (2013) 1451. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(13\)71505-6](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(13)71505-6)
5. D. A. Slattery y J. F. Cryan, Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents, *Nature Protocols* **7** (2012) 1009. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.044>
6. R. R. Griffiths *et al.*, Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial, *J. Psychopharmacol.* **30** (2016) 1181. <https://doi.org/10.1177/0269881116675513>
7. E. Austin *et al.*, Acute renal injury cause by confirmed *Psilocybe cubensis* mushroom ingestion, *Med. Mycol. Case Rep.* **23**(2019) 55-57. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2018.12.007>
8. R. Reyes-Luna, *Curso-Taller Análisis de semen humano con base a los parámetros de la OMS y fragmentación del ADN espermático* (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, 2015), pags. 8-18.
9. M. H. Jahromy y A. A. Moghadam, Effects of Sertraline on Sperm Motility, Number and Viability and Its Relation to Blood Levels of Testosterone, FSH and LH in Adult Male Mice, *Adv. Sex. Med.* **4** (2014) 17. <http://dx.doi.org/10.4236/asm.2014.42004>
10. D. W. P. Hay y R. M. Wadsworth, The Contractile Effects of 5-hydroxytryptamine on the Rat Isolated Vas Deferens, *Br. J. Pharmacol.* **77** (1982) 605. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1982.tb09338.x>
11. F. Jiménez-Trejo, *et al.*, Evidence of 5-HT components in human sperm: implications for protein tyrosine phosphorylation and the physiology of motility, *J. Androl.* **28** (2007) 136. <https://doi.org/10.1530/REP-12-0145>
12. F. Erdemir *et al.*, The effect of Sertraline, Paroxetine, Fluoxetine and Escitalopram on testicular tissue and oxidative stress parameters in rats, *Int. Braz. J. Urol.* **40** (2014) 100. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.01.15>
13. Z. Sepehrmanesh *et al.*, Comparison of the Effect of Sertraline With Behavioral Therapy on Semen Parameters in Men With Primary Premature Ejaculation, *Urology* **83** (2014) 800. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2013.12.004>
14. G. F. Gonzales, M. Garcia-Hjarles y G. Velasquez, Hyperprolactinaemia and Hyperserotoninaemia: Their Relationship to Seminal Quality, *Andrologia* **24** (1992) 95. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1992.tb02617.x>
15. V. H. Nargund, Effects of Psychological Stress on Male Fertility, *Nat. Rev. Urol.* **12** (2015) 373. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2015.112>
16. C.H. Munkboel *et al.*, Sertraline Suppresses Testis and Adrenal Steroid Production and Steroidogenic Gene Expression While Increasing LH in Plasma of Male Rats Resulting in Compensatory Hypogonadism, *Toxicol. Sci.* **163** (2018) 609. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy059>